



Isabel Maria Pereira Ramos Pais

RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE TRIGO A CONDIÇÕES DE ALAGAMENTO. IMPACTO NA ECOFISIOLOGIA E PRODUÇÃO

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologias de Produção e Transformação Agro-Industrial

Orientador: Doutora Paula Scotti Lorenzini Borges Campos Afonso, Investigadora Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Co-orientadores: Professor Doutor Fernando Henrique da Silva Reboredo, Professor Auxiliar com Agregação, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Doutor Benvindo Martins Maças, Investigador Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Júri:

Presidente: Doutora Maria Fernanda Guedes Pessoa, Professora Auxiliar, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Arguente: Doutora Elsa Margarida Nunes Leal Gonçalves, Investigadora Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Vogal: Doutor Benvindo Martins Maças, Investigador Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Setembro, 2019



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA



Resposta de genótipos de trigo a condições de alagamento. Impacto na ecofisiologia e produção

**Isabel P. Pais
2019**



Isabel Maria Pereira Ramos Pais

RESPOSTA DE GENÓTIPOS DE TRIGO A CONDIÇÕES DE ALAGAMENTO. IMPACTO NA ECOFISIOLOGIA E PRODUÇÃO

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Tecnologias de Produção e Transformação Agro-Industrial

Orientador: Doutora Paula Scotti Lorenzini Borges Campos Afonso, Investigador Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Co-orientadores: Professor Doutor Fernando Henrique da Silva Reboredo, Professor, Auxiliar com Agregação, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa

Doutor Benvindo Martins Mações, Investigador Auxiliar, Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, I.P.

Setembro, 2019



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

“Resposta de genótipos de trigo a condições de alagamento. Impacto na ecofisiologia e produção”

Copyright © Isabel Maria Pereira Ramos Pais, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objectivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

À minha filha Elisa

Agradecimentos

Ao coordenador do Mestrado, Professor Doutor Fernando Lidon, pela enorme confiança que em mim depositou, por todo o conhecimento transmitido, pelo apoio, incentivo e amizade.

À minha orientadora Doutora Paula Scotti, pela orientação científica, pelas sugestões de melhoria, dedicação e apoio neste trabalho e pela sua amizade.

Ao meu co-orientador Professor Doutor Fernando Reboredo, pelo apoio, incentivo, disponibilidade e partilha de conhecimentos.

Ao meu co-orientador Doutor Benvindo Maçãs, coordenador da Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Biotecnologia e Recursos Genéticos, a que pertenço, pela oportunidade de desenvolver o trabalho para esta dissertação nas instalações do INIAV, I.P. e no âmbito de um tema que é muito do meu agrado.

À Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa e ao corpo docente do Mestrado em Tecnologias de Produção e Transformação Agroindustrial.

A todos aqueles com quem partilhei a minha atividade laboral, pelos conhecimentos transmitidos e pelo reconhecimento que permitiu agarrar esta oportunidade.

Ao José Semedo pela preciosa colaboração na determinação das trocas gasosas e obtenção da produção, pelo companheirismo, apoio e amizade.

Aos colegas do INIAV Manuela Oliveira, Mário Santos, Paula Vasilenko e Paulo Gaspar, agradeço o apoio e a harmoniosa convivência. À Mafalda Albuquerque pela ajuda nas determinações do MDA.

Aos meus colegas do Mestrado, em especial, Luiza Andrade, Óscar Pinto, Adilson Manguzeze, Rita Coelho e Cláudia Pessoa pelo companheirismo, pela convivência e pelos momentos agradáveis e divertidos nesta caminhada.

À minha querida filha Elisa, por ser a melhor filha do mundo! Agradeço o apoio, a companhia em muitas horas de estudo e ajuda na debilidade. Juntas sabemos que nada se consegue sem esforço, que os desafios se enfrentam, que as oportunidades se agarram e que desistir não é opção. Obrigada por todo o mimo e por nunca te queixares da minha pouca disponibilidade durante este período. *Love u lots!*

À minha fantástica família, mãe Rosa, irmãs Fátima, São, Paula e Cláudia, padrasto José, cunhados Carlos e Romão, sobrinhos Miguel, Pedro, Aninhas, Francisco, António, Margarida, Carolina e Diva, sobrinhos-netos Francisco e António e enteados Ana e Miguel por serem o meu suporte nos momentos menos bons e celebrarem comigo os momentos altos. Um beijo especial à mana Fátima por sempre ter visto mais além. Ao meu pai, que sempre me acompanhou apesar de não estar entre nós. Ao Zé, pelo seu contributo.

A todos os parentes, colegas e amigos, que não mencionei, mas que contribuíram de alguma forma para que eu chegasse até aqui.

Resumo

O trigo fornece ca. de 20 % das necessidades energéticas e proteicas da dieta humana. O alagamento dos terrenos de cultivo afeta anualmente 10-15 milhões de hectares de trigo. Neste estudo avaliou-se o efeito do alagamento na ecofisiologia e na produção de 15 genótipos de trigo mole (*Triticum aestivum* L.) em condições controladas. As plantas aphiladas, foram sujeitas a alagamento total (14 dias), sendo monitorizados o pH, a condutividade elétrica (CE) e os macro e microelementos do solo. No solo alagado a CE reduziu, refletindo menores teores de Ca, K e Cu. Durante o alagamento e na recuperação avaliou-se o nº de raízes adventícias e de filhos, e os teores de clorofila (SPAD). Após alagamento avaliou-se nas folhas, a integridade membranar, as trocas gasosas, os teores de pigmentos, os elementos minerais, os açúcares solúveis, o teor e grau de insaturação dos lípidos, e a acumulação de malonildialdeído (MDA). A produção foi avaliada pelas espigas e grão obtidos, massa do hectolitro (PH) e peso de mil grãos (PMG). Os genótipos Ch., Nab., Sol., Sunv., BT-S, Sois., Rest., Alent. e Arp mostraram suscetibilidade ao alagamento, refletida em decréscimos (21 a 85 %) na produção de grão, decorrentes de uma maior afetação ao nível fisiológico: degradação das clorofilas, reduções da fotossíntese (exceto Rest. e BT-S) e aumento do MDA (Alent., Nab., Arp. e BT-S), indicadores de stresse oxidativo e senescência celular. Estas perturbações metabólicas, conduziram também à acumulação de açúcares em Alent., Nab., Sunv. e BT-S. O melhor desempenho ocorreu em Exc., K/P//M/D, D/G//S, G/... e MC., onde a produção foi estável. Apesar do decréscimo da fotossíntese, estes genótipos apresentaram também um aumento da eficiência do uso da água e características distintivas no desenvolvimento de raízes adventícias (elevado nº em Exc. e MC ; desenvolvimento precoce em K/P//M/D, D/G//S, G/...), o que sugere uma maior tolerância ao alagamento. Estes resultados mostram uma grande variabilidade genética do germoplasma em estudo face ao alagamento, o que poderá constituir uma mais valia para o melhoramento desta cultura no contexto das alterações climáticas.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, alagamento, germoplasma, indicadores fisiológicos

Abstract

Wheat provides *ca.* 20% of the energy and protein requirements of the human diet. About 10-15 million ha of the world's wheat growing areas are affected by waterlogging each year. The aim of this study was to analyze the effect of 14 days waterlogging, applied at tillering stage, on 15 bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Effects were evaluated on grain yield and ecophysiological traits. Plants were grown, under controlled conditions. At the beginning and end of treatment pH, electrical conductivity (EC) and soil macro and microelements were analyzed. EC reductions reflect lower Ca, K and Cu contents in waterlogged soil. Throughout waterlogging and after recovery, the number of adventitious roots and tillers was assessed, as well as chlorophyll relative content (SPAD). After waterlogging, membrane integrity was evaluated, along with leaf gas exchanges. Pigment contents, minerals, soluble sugars, lipid amounts and unsaturation, as well as malondialdehyde (MDA), were measured in leaves. At grain maturity, spike production was assessed along with grain yield per plant, test weight (PH) and thousand kernel weight (PMG). In Ch., Nab., Sol., Sunv., BT-S, Sois., Rest., Alent. and Arp. yield decreases (21 to 85 %) revealed stronger physiological impairments, as shown by chlorophyll degradation, lower photosynthesis (except Rest. and BT-S), and increased MDA (Alent., Nab., Arp. and BT-S), which reflect oxidative stress and cell senescence. Such metabolic disorders may underly leaf sugar accumulation (Alent., Nab., Sunv. and BT-S). The best performance occurred in Exc., K/P//M/D, D/G//S, G/... and MC., where no differences were found in grain yield.. These genotypes also showed increased water use efficiency and some unique traits, namely a higher number of adventitious roots (Exc. and MC), and an early development of such roots (K/P//M/D, D/G//S, G/...). These results suggest a higher waterlogging tolerance of these 5 genotypes under the tested conditions. The genetic variability found in response to waterlogging in the studied germplasm may constitute an added value for wheat breeding in the context of global climate changes.

Key-words: *Triticum aestivum*, waterlogging, germplasm, physiological traits

Lista de abreviaturas, símbolos, siglas e acrônimos

%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
AG	Ácidos Gordos
AGT	Ácidos Gordos Totais
Al	Alumínio
Alent.	Alentejano
ANOVA	Análise de Variância
Arp.	Arpige
ATP	Adenosina trifosfato
B	Boro
BF ₃	Triflureto de Boro
BHT	Hidroxitolueno butilado
BT-S	BT-Schomburgk
C16:0	Ácido palmitico
C16:1	Ácido palmitoleico
C17:0	Ácido heptadecanóico
C18:0	Ácido esteárico
C18:1	Ácido oleico
C18:2	Ácido linoleico
C18:3	Ácido linolénico
ca.	<i>Circa</i>
Ca	Cálcio
CaCl ₂	Cloreto de cálcio
Carot.	Carotenóides
CE	Condutividade elétrica
CE _{1:1} , solo:água	Condutividade elétrica determinada numa mistura de solo e água em partes iguais
Ch.	Chaimite
Ci	Concentração interna de CO ₂
Clor.	Clorofila
cm	Centímetro
CO ₂	Dióxido de carbono
Cu	Cobre
D/G//S	Ducula/Gondo//Sokol
DBI	<i>Double Bond Index</i> (grau de insaturação)
DCT	Departamento de Ciências da Terra
dS	Decisiemen
E	Transpiração
EDTA-Ca	Etilenodiaminotetracetato de cálcio dissódico,
EUA	Estados Unidos da América
Exc.	Excalibur
FAO	<i>Food and Agriculture Organization</i>
FAOSTAT	<i>Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division</i>
Fe	Ferro

g	Grama
<i>g</i>	Força da gravidade
G/...	Gus/3/PrI/Sara/Tsi/Vee#5/...
gs	Condutância estomática
h	Hora
H ₂ O	Água
ha	Hectare
hL	Hectolitro
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida de Alta Resolução)
HR	Humidade relativa
I%	Índice de dano em %
<i>i.e.</i>	<i>id est</i>
INE	Instituto Nacional de Estatística.
IWGSC	<i>International wheat genome sequencing consortium</i>
INIAV	Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária
IRGA	<i>Infra red gas analyser</i> (Analisador de gases por infravermelhos)
iWUE	<i>Instantaneous water use efficiency</i> (Eficiência instantânea do uso da água)
K	Potássio
kg	Quilograma
K/P//M/D	Kldr/Pewit1//Milan/Ducula
L	Litro
LED	Díodo emissor de luz
LT	Lípidos Totais
M	Molar
m	Metro
MC	Mocho Cabeçudo
MDA	Malonildialdeído
Mg	Magnésio
min	Minuto
mL	Mililitro
mm	Milímetro
Mn	Manganês
Mo	Molibdénio
mS	Milisiemens
N	Azoto
Nab.	Nabão
NaOH	Hidróxido de Sódio
Ni	Níquel
nm	Nanometro
nº	Número
NP	Norma Portuguesa
O ₂	Oxigénio
°C	Graus Celsius
Or.	Orion
p/v	Peso/volume

PF	Peso fresco
pH	Potencial hidrogeniônico
PH	Peso do hectolitro
pH _{Ca}	Potencial hidrogeniônico determinado em solução de cloreto de cálcio
pHw	Potencial hidrogeniônico determinado em água
PMG	Peso de mil grãos
Pn	Taxa fotossintética líquida
ppm	Partes por milhão
PS	Peso seco
PUFA	<i>Polyunsaturated fatty acid</i> (Ácido gordo polinsaturado)
PVPP	Polivinilpolipirrolidona
Rest.	Restauração
ROS	<i>Reactive oxygen species</i> (Espécies reativas de oxigênio)
rpm	Rotações por minuto
s	Segundo
S	Enxofre
Sois.	Soissons
Sol.	Solehio
SPAD	<i>Soil Plant Analysis Development</i> (..)
Sunv.	Sunvale
t	Tonelada
T0	Dia do início do tratamento
T14	Décimo quarto dia de tratamento
T14 A	Décimo quarto dia de tratamento, plantas alagadas
T14 C	Décimo quarto dia de tratamento, plantas não alagadas
T14 R	14 dias de recuperação após o fim do alagamento
T2 A	Segundo dia de tratamento, plantas alagadas
T4 A	Quarto dia de tratamento, plantas alagadas
T7 A	Sétimo dia de tratamento, plantas alagadas
T7 C	Sétimo dia de tratamento, plantas não alagadas
TBA	Ácido tiobarbitúrico
v/v	volume/volume
XRF	<i>X-ray fluorescence</i> (Fluorescência por raio-X)
Zn	Zinco
μL	Microlitro
Δ	Variação
μmol	Micromole

Índice

Agradecimentos.....	xi
Resumo	xiii
Abstract	xv
Lista de abreviaturas, símbolos, siglas e acrónimos	xvii
Lista de tabelas	xxiii
Lista de figuras	xxiv
1. Introdução	1
1.1. Aspetos gerais	1
1.2. Enquadramento e objetivos	3
2. Enquadramento teórico	5
2.1. O trigo	5
2.2. Efeito do alagamento no solo	8
2.3. Respostas das plantas ao alagamento	10
2.3.1. Filhos	10
2.3.2. Raízes adventícias	10
2.3.3. Trocas gasosas	11
2.3.4. Pigmentos fotossintéticos	12
2.3.4.1. Teor relativo de clorofila – SPAD	12
2.3.4.2. Teor absoluto de clorofila e carotenóides	12
2.3.5. Açúcares	13
2.3.6. Impacto nas membranas	13
2.3.6.1. Teste de fuga de eletrólitos	13
2.3.6.2. Lípidos membranares	13
2.3.6.3. Lipoperoxidação	13
2.4. Efeito do alagamento na produção	14
2.4.1. Número de espigas planta ⁻¹	15
2.4.2. Número de grãos espiga ⁻¹	15
2.4.3. Peso do hectolitro (PH)	15
2.4.4. Peso de mil grãos (PMG)	15
3. Material e Métodos	17
3.1. Material vegetal e condições de crescimento	17
3.1.1. Germoplasma	17
3.1.2. Instalação do ensaio	17
3.2. Métodos	18
3.2.1. Capacidade de campo	18
3.2.2. Amostras de solo	18
3.2.2.1. Elementos minerais espectrometria de fluorescência de raios-X	19
3.2.2.2. pH	20
3.2.2.3. Condutividade elétrica	20
3.2.3. Determinações na planta	20
3.2.3.1. Número de filhos	20
3.2.3.2. Raízes Adventícias	20
3.2.4.3. SPAD	21

3.2.3.4. Trocas gasosas foliares	21
3.2.3.5. Relação Peso fresco/Peso seco	22
3.2.3.6. Fuga de eletrólitos	22
3.2.3.7. Clorofilas e carotenóides totais.....	22
3.2.3.8. Açúcares solúveis	23
3.2.3.9. Lípidos das membranas foliares.....	23
3.2.3.10. Lipoperoxidação - MDA	24
3.2.3.11. Elementos minerais	25
3.2.4. Rendimento e componentes de produção	25
3.2.4.1. Número de espigas planta ⁻¹	25
3.2.4.2. Número de grãos espiga ⁻¹	25
3.2.4.3. Peso de grão planta ⁻¹	25
3.2.4.4. Peso do hectolitro (PH)	25
3.2.4.5. Peso de mil grãos (PMG)	26
3.3. Análise estatística	26
4. Resultados e discussão	27
4.1. Efeito do alagamento no pH _{Ca} , CE e elementos minerais do solo	27
4.2. Efeito do alagamento nas raízes adventícias	28
4.3. Efeito do alagamento nos filhos	29
4.4. Efeito do alagamento nos pigmentos fotossintéticos	31
4.5. Efeito do alagamento nas trocas gasosas foliares	33
4.6. Efeito do alagamento nos açúcares solúveis foliares	36
4.7. Efeito do alagamento na permeabilidade membranas	38
4.8. Efeito do alagamento nos lípidos membranares	38
4.9. Efeito do alagamento na lipoperoxidação	41
4.10. Efeito do alagamento nos macro e microelementos minerais das folhas	42
4.11. Efeito do alagamento no rendimento e componentes de produção	44
5. Conclusões	49
6. Bibliografia	51
7. Anexos	65
7.1. Anexo 1 - Escala decimal de desenvolvimento dos cereais (Zadoks et al.,1974)	65
7.2. Anexo 2 - Teores dos vários elementos minerais do solo detetados por XRF, e respetiva análise estatística	67

Lista de tabelas

Tabela 4.1 - Efeito de 14 dias de alagamento no pH_{Ca} e na condutividade elétrica (CE) do solo	27
Tabela 4.2 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ca, K, Fe, Al, Si, Ti, Mn, Cu, Zn, Zr, Sr, Rb e Nb no solo	28
Tabela 4.3 - Número de raízes adventícias em plantas de <i>T. aestivum</i> L. sujeitas a alagamento total	29
Tabela 4.4 - Efeito de 14 dias de alagamento nos açúcares solúveis foliares	37
Tabela 4.5 - Efeito de 14 dias de alagamento nos ácidos gordos (AG) foliares	40
Tabela 4.6 - Efeito de 14 dias de alagamento nos macronutrientes de folhas de 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	42
Tabela 4.7 - Efeito de 14 dias de alagamento nos micronutrientes de folhas de 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	43
Tabela 4.8 - Efeito de 14 dias de alagamento na produção planta ⁻¹ (g), Nº espigas planta ⁻¹ , Nº grãos espiga ⁻¹ , Peso do Hectolitro (PH, kg hL ⁻¹) e Peso de mil grãos (PMG, g) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	46
Tabela 7.1 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ca (%) no solo	69
Tabela 7.2 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de K (%) no solo	69
Tabela 7.3 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Fe (%) no solo	70
Tabela 7.4 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Al (%) no solo	70
Tabela 7.5 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Si (%) no solo	71
Tabela 7.6 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ti (%) no solo	71
Tabela 7.7 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Mn (ppm) no solo	72
Tabela 7.8 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Cu (ppm) no solo	72
Tabela 7.9 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Zn (ppm) no solo	73
Tabela 7.10 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Zr (ppm) no solo	73
Tabela 7.11 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Sr (ppm) no solo	74
Tabela 7.12 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Rb (ppm) no solo	74
Tabela 7.13 - Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Nb (ppm) no solo	75

Lista de figuras

Figura 1.1 - Processos de hibridação entre <i>Triticum</i> e <i>Aegilops</i> que levaram à criação de <i>Triticum aestivum</i> L.	1
Figura 1.2 - Evolução da produtividade ($t\ ha^{-1}$) da cultura do trigo em Portugal e no mundo no período 1961-2017	2
Figura 2.1 - Componentes da planta de trigo e seu sistema radicular	5
Figura 2.2 - Pormenor das primeiras raízes seminais e do coleóptilo em <i>T. aestivum</i> L. ..	6
Figura 2.3 - Raízes adventícias em plantas de <i>T. aestivum</i> L. após 14 dias de alagamento	6
Figura 2.4 - Coleóptilo e 1ª folha em <i>T. aestivum</i> L.. Pormenor de um nó e da distância entre nós no final do ciclo	6
Figura 2.5 – Seção transversal de um colmo no fim do ciclo produtivo em <i>T. aestivum</i> L.	6
Figura 2.6 - Pormenor de filhos em genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	7
Figura 2.7 - Espigas de diferentes variedades de <i>T. aestivum</i> L.	7
Figura 2.8 - Estádios de desenvolvimento do trigo conforme a escala de Zadoks	8
Figura 2.9 - Relação entre o pH_{Ca} do solo e a disponibilidade de nutrientes	9
Figura 2.10 - Stresses abióticos induzem produção de Espécies Reativas de Oxigénio (ROS) com efeitos em diferentes parâmetros do trigo	14
Figura 3.1 - Várias fases do estudo: Sementeira; Número final de plantas por vaso; Alagamento dos vasos em caixas; Filme de água 0,5 cm acima do solo	17
Figura 3.2 - Recolha de solo	19
Figura 3.3 - Representação esquemática de um detetor de minerais por espectrometria de fluorescência de raios X portátil (XRF)	19
Figura 3.4 – Medição do teor relativo de clorofila numa folha de <i>T. aestivum</i> L. com um medidor de clorofila <i>Soil Plant Analysis Development</i> (SPAD) e respetivo princípio de funcionamento	21
Figura 3.5 – IRGA em sistema aberto: a fotossíntese (P_n) e a transpiração (E) são calculadas a partir das diferenças no CO_2 e H_2O entre as condições dentro da câmara e as condições na câmara de referência	22
Figura 4.1 – Efeito do alagamento no número de filhos nos diferentes genótipos de <i>T. aestivum</i> L. em estudo, em plantas não alagadas ou alagadas	30
Figura 4.2 – Efeito do alagamento nos pigmentos fotossintéticos dos diferentes genótipos de <i>T. aestivum</i> L. em estudo, em plantas não alagadas ou sujeitas a alagamento	32
Figura 4.3 – Impacto de 14 dias de alagamento na taxa de fotossíntese (P_n) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	33
Figura 4.4 – Impacto de 14 dias de alagamento na condutância estomática (g_s) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	34
Figura 4.5 – Impacto de 14 dias de alagamento na concentração interna de CO_2 (C_i) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	34
Figura 4.6 – Impacto de 14 dias de alagamento na transpiração (E) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	35
Figura 4.7 – Impacto de 14 dias de alagamento na eficiência instantânea do uso da água ($iWUE$) em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	35

Figura 4.8 – Impacto de 14 dias de alagamento no teor de açúcares totais em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	36
Figura 4.9 – Índice de dano ao fim de 14 dias de alagamento em 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	38
Figura 4.10 – Ácidos gordos totais (mg g ⁻¹ PS) em folhas de plantas de 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.. sujeitas a 14 dias de alagamento	39
Figura 4.11 – Grau de insaturação (DBI, <i>double bond index</i>) dos lípidos foliares de plantas de 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.. sujeitas a 14 dias de alagamento	41
Figura 4.12 – Teor de malonildialdeído (μg g ⁻¹ PS) em folhas de plantas de 15 genótipos de <i>T. aestivum</i> L.. sujeitas a 14 dias de alagamento	41
Figura 4.13 - Efeito do alagamento na produção de grão (g planta ⁻¹), expressa como variação da percentagem em relação ao controlo, em genótipos de <i>T. aestivum</i> L.	45

1 - Introdução

1.1. Aspetos gerais

A nível mundial, o trigo é considerado a terceira espécie mais cultivada, sendo apenas superada pelo arroz e pelo milho. Em 2017 a cultura de trigo ocupava 218,5 milhões ha (FAOSTAT, 2019) distribuídos por regiões geográficas desde 67º Norte a 45º Sul (Shewry, 2009). Com uma produção mundial de 749 milhões de toneladas (FAOSTAT, 2019) tem um peso significativo na dieta mundial, fornecendo ca. de 20 % das necessidades energéticas e proteicas (Hawkesford et al., 2013). Em Portugal o consumo médio diário de trigo em 2016 foi de 234,8 g por habitante (INE, 2017).

A cultura do trigo teve origem há 10000 anos no sudoeste da Turquia, com o cultivo de variedades diplóides (genoma AA) e tetraplóides (AABB). O trigo mole (*Triticum aestivum* L.) é hexaplóide (genoma AABBDD), e surgiu há ca. de 8000 anos (Marcussen et al., 2014) como resultado de processos de hibridação entre *Triticum* e *Aegilops* (Figura 1.1)

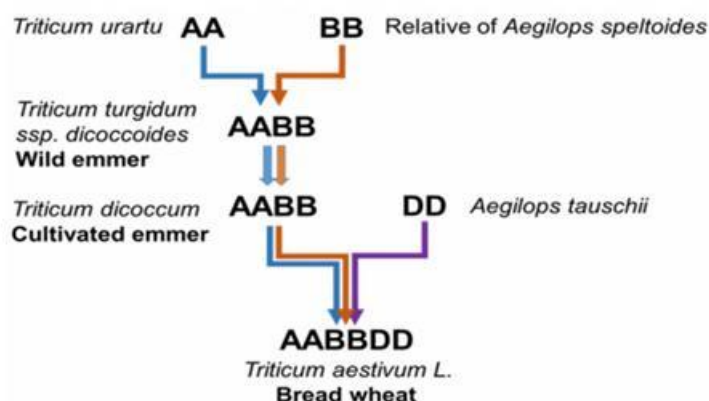


Figura 1.1 - Processos de hibridação entre *Triticum* e *Aegilops* que levaram à criação de *Triticum aestivum* L. (Brewster et al., 2019).

A nível mundial, *Triticum aestivum* L. representa 95 % do trigo produzido (Shewry, 2009). Portugal segue o mesmo padrão sendo cultivado maioritariamente nas regiões do Alentejo e de Trás-os-Montes (Galinha et al., 2013).

A recente sequenciação do genoma do trigo hexaplóide e tetraplóide (IWGSC, 2014), assim como dos seus progenitores diplóides (Jia et al., 2013; Ling et al., 2013), traz enorme potencial para o melhoramento desta espécie uma vez que a diversidade genética dos parentes selvagens é reconhecida como fonte valiosa de genótipos tolerantes a stresses bióticos e abióticos (Sasanuma et al., 2002; Schneider et al., 2008; Brewster et al., 2019).

É amplamente conhecida a necessidade de aumentar a produtividade média mundial de trigo (Hawkesford et al., 2013), que atualmente atinge 3,5 t ha⁻¹ (FAOSTAT, 2019), de forma a garantir a segurança alimentar face ao aumento populacional previsto. Em Portugal o aumento da produtividade tem seguido a tendência global, com um aumento de 3,2 vezes quando comparados os valores de 2017 com os de 1961. No entanto a produtividade média nacional é inferior à média mundial, situando-se em ca. 2,1 t ha⁻¹ (Figura 1.2).

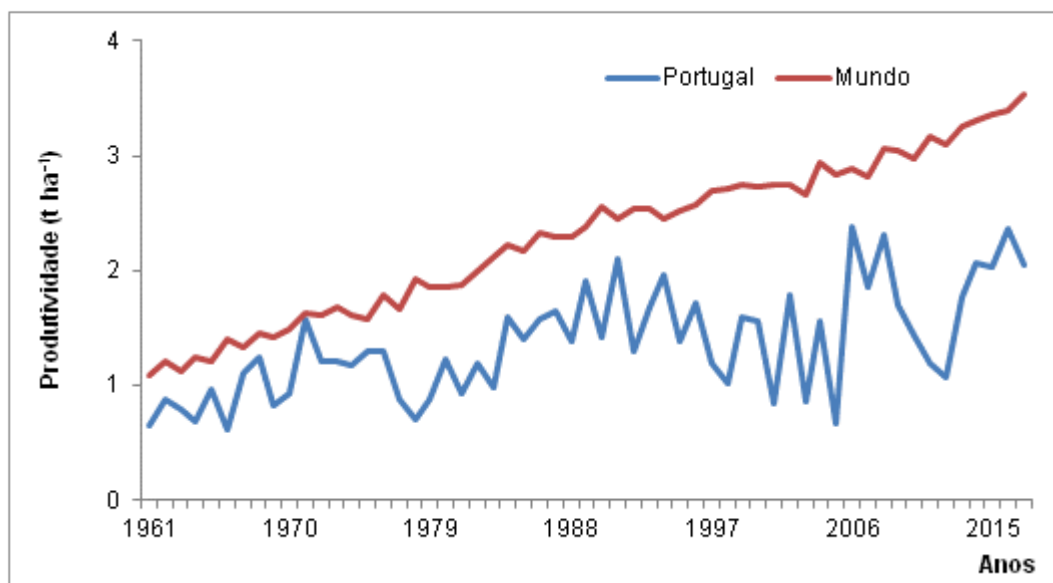


Figura 1.2 - Evolução da produtividade ($t\ ha^{-1}$) da cultura do trigo em Portugal e no mundo no período 1961-2017 (FAOSTAT, 2019).

Desde o início do século XX, o melhoramento genético tem desempenhado um papel determinante na produção e na segurança alimentar, desenvolvendo novas cultivares com maior potencial de rendimento (Hawkesford, 2013), melhor qualidade tecnológica e nutricional, e mais adaptadas e resistentes a stresses bióticos e abióticos (Fu, 2015; Venske, 2019). Atualmente, para além destas características, outros requisitos fundamentais são tidos em conta pelos melhoradores, visando o uso eficiente dos recursos de forma a assegurar a sustentabilidade dos sistemas agrícolas (Hawkesford, 2013), mas também a manutenção da diversidade genética necessária à estabilidade do rendimento sob condições climáticas imprevisíveis (Heinemann et al., 2013).

O alagamento dos terrenos de cultivo é um stress abiótico que afeta o crescimento das culturas, podendo ser provocado por inundações, excesso de chuva ou deficiente drenagem dos campos (Lone, 2016). Como consequência do aquecimento global, a incidência dos eventos climáticos extremos têm aumentado de frequência, de intensidade e de imprevisibilidade (IPCC, 2014) levando a alterações na disponibilidade de água para a agricultura (Fukao et al., 2019). De facto, a superfície de terrenos agrícolas com problemas de alagamento tem vindo a aumentar a par com os que sofrem com escassez hídrica (Pfeiffer et al., 2005).

O alagamento ou inundação do solo, caracteriza-se pelo excesso de água no solo, e numa fase inicial afeta principalmente a raiz da planta. A água que satura o solo pode cobrir totalmente a raiz (alagamento total) ou só parte desta (alagamento parcial) (Sasidharan et al., 2017; Fukao et al., 2019) perturbando, em qualquer dos casos, o movimento do oxigénio do ar para os tecidos da planta (Lee et al., 2011), e originando situações de hipóxia/anóxia (Sasidharan et al., 2017).

Devido ao seu impacto em diversas regiões geográficas, o alagamento de campos agrícolas é motivo de preocupação global (FAO, 2015). Anualmente 10-15 milhões de hectares de trigo são afetados levando a perdas de produção que podem oscilar entre 20 e 50% (Hossain and

Uddin, 2011), com consequências económicas desastrosas (Shaw et al., 2013; de San Celedonio et al., 2014a).

O desenvolvimento de cultivares tolerantes carece, entre outros aspetos, do conhecimento adequado dos mecanismos fisiológicos de tolerância aos stresses e da variabilidade genética existente, que podem contribuir para a eficácia dos métodos de seleção (Pfeiffer et al., 2005; Mustroph, 2018).

Devido ao melhoramento genético, existe um grande número de cultivares de trigo. No entanto, a maioria foi desenvolvida com o objetivo de obter altos rendimentos de grão e excelente qualidade alimentar, o que conduziu tanto à perda de variabilidade genética como de resistência a stresses (Mustroph, 2018). Provenientes de cultivares antigas com baixa produtividade existem ainda *loci* tolerantes a determinados stresses, que podem ser transferidos para as cultivares modernas (Mustroph, 2018). Fazer a triagem de um vasto número de cultivares para determinado stresse e selecionar as que apresentam maior resistência a esse stresse é uma das estratégias que pode ser seguida para identificar possíveis progenitores a usar nos programas de melhoramento (Mustroph, 2018).

Uma vez que a resposta do trigo ao alagamento é influenciada pelas condições ambientais (Herzog et al., 2016), é desejável que o estudo dos impactos deste stresse abiótico na fisiologia e na produtividade seja avaliado em condições ambientais controladas.

1.2. Enquadramento e objetivos

Em ensaios prévios no âmbito do programa de melhoramento de trigo do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV), foram testados em estufa 73 genótipos de trigo mole de 7 proveniências (Trigos antigos coleção Vasconcelos, Trigos de introdução Italianos, Trigos de revolução verde CIMMYT, Trigos modernos Ingleses/Alemães, Trigos modernos Franceses, Trigos Australianos e Trigos de linhas avançadas) sujeitos a dois níveis de alagamento parcial, tendo-se observado uma grande diversidade de respostas, e selecionado os genótipos menos afetados.

Uma vez que a tolerância ao alagamento é uma característica relevante para o melhoramento do trigo, o presente trabalho teve como objetivo estudar o efeito de 14 dias de alagamento total nos genótipos previamente selecionados, de forma a avaliar o impacto deste stresse na produção e em alguns parâmetros ecofisiológicos.

As plantas cresceram em vasos, em condições controladas de fotoperíodo, temperatura, humidade relativa (HR), irradiância e CO₂. O alagamento foi estabelecido quando as plantas se encontravam em franco afilhamento (Escala Zadoks 23 a 25), o que correspondeu a 35-51 dias após sementeira, de acordo com o ciclo de cada genótipo.

No solo foram analisados o pH, a condutividade e os elementos minerais no início e fim do alagamento. Contabilizou-se o número de raízes adventícias e de filhos, durante o alagamento e após 14 dias de recuperação, assim como os teores de clorofila por método não destrutivo (SPAD). Ao 14º dia de imposição do stresse avaliaram-se as trocas gasosas (fotossíntese líquida - P_n, condutância estomática - g_s, transpiração - E, e eficiência do uso da água - WUE), o teor de pigmentos (clorofilas totais, carotenóides totais), elementos minerais e açúcares solúveis nas folhas, a integridade membranar (fuga de eletrólitos), e o teor de lípidos foliares, o seu grau de insaturação e de lipoperoxidação. No fim do ciclo produtivo foi avaliada a viabilidade

dos filhos obtidos (produção de espiga), bem como alguns fatores de produção nomeadamente a produção de grão (g planta^{-1}), a massa do hectolitro (kg hl^{-1}) e o peso de mil grãos (PMG). Com base nestes parâmetros avaliou-se o impacto do alagamento comparando os genótipos em condições de stresse e em controlo com o objetivo de selecionar possíveis progenitores a usar em futuros cruzamentos.

2. Enquadramento teórico

2.1. O trigo

O trigo é uma planta anual da família *Poaceae*, género *Triticum*. O trigo mole pertence à espécie *Triticum aestivum* (L.) e é hexaplóide ($2n = 42$).

A planta de trigo (*Triticum* sp.) é estruturada em raízes, colmo, folhas e inflorescências (Figura 2.1 A). O sistema radicular é formado por raízes seminais, raízes permanentes (coroa) e raízes adventícias (Fig. 2.1 B).

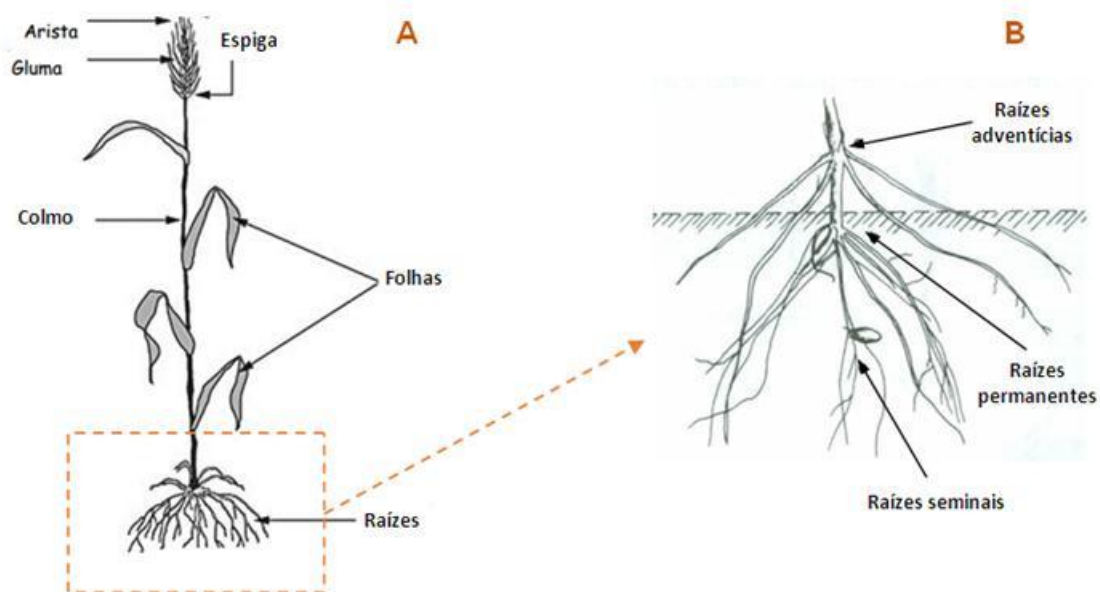


Figura 2.1 - Componentes da planta de trigo e seu sistema radicular. Adaptado de Scheeren et al., 2015.

As raízes seminais são originadas diretamente da semente, desenvolvendo-se em simultâneo o coleóptilo (Figura 2.2). Na maioria das plantas, cerca de 20 dias após a emergência, a 1-2 cm abaixo da superfície do solo, forma-se a coroa de onde são emitidas as raízes permanentes (Scheeren et al., 2015).

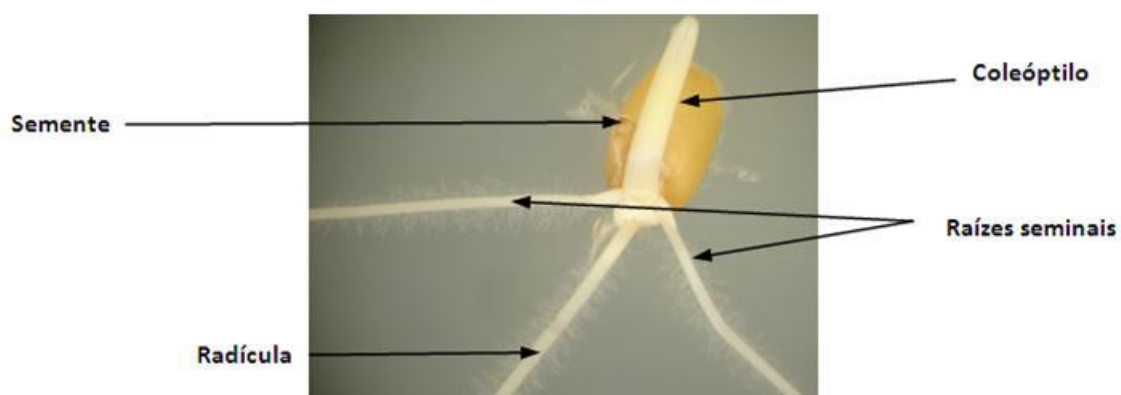


Figura 2.2 - Pormenor das primeiras raízes seminais e do coleóptilo em *T. aestivum* L. variedade Nabão aos 5 dias após sementeira.

Em determinadas condições, a partir do primeiro ou segundo nó da planta, podem surgir raízes adventícias acima da superfície do solo (Figura 2.3).



Figura 2.3 - Raízes adventícias em plantas de *T. aestivum* L. após 14 dias de alagamento total.

O desenvolvimento das folhas inicia-se com a emissão do coleóptilo, uma pseudofolha que protege a primeira folha (Figura 2.4). No final do ciclo as plantas de trigo têm na sua maioria 5 a 6 folhas por colmo, que correspondem ao número de entrenós (Scheeren et al., 2015).

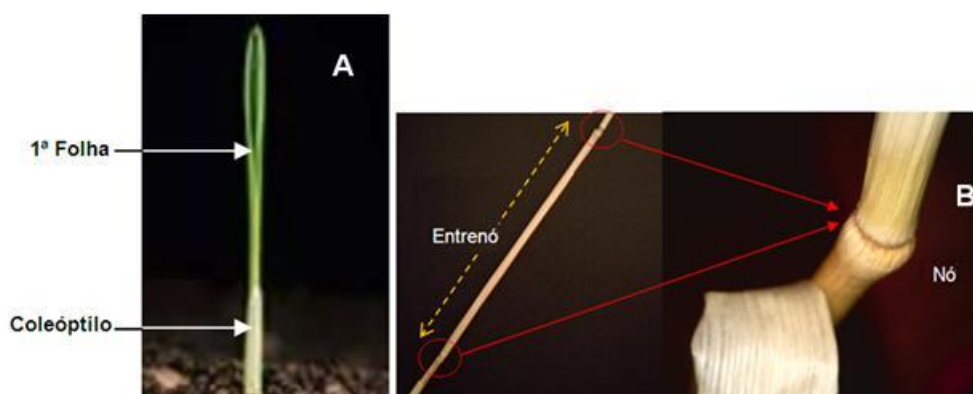


Figura 2.4 - Coleóptilo e 1ª folha em *T. aestivum* L. (A). Pormenor de um nó e da distância entre nós no final do ciclo na variedade Alentejano (B). Foto A: <http://www.orsementes.com.br/>.

A altura do colmo varia não só entre genótipos mas também dentro de cada genótipo consoante as condições de crescimento. O colmo é oco, cilíndrico (Figura 2.5) e tem 4 a 7 entrenós de comprimento variável (Scheeren et al., 2015).

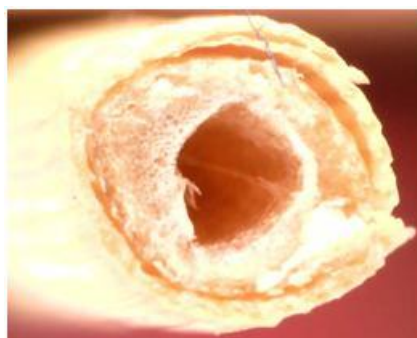


Figura 2.5 - Seção transversal de um colmo no fim do ciclo produtivo em *T. aestivum* L. variedade Alentejano.

Cerca de 15 dias após germinação são emitidos novos colmos denominados filhos (Figura 2.6). O aparecimento do 1º filho depende do genótipo, da densidade de plantas, da profundidade de sementeira, da temperatura do ar, da radiação e do tamanho da semente. Este estágio de desenvolvimento é muito afetado pelo ambiente, sendo os filhos emitidos somente quando ocorrem condições ambientais adequadas (Almeida et al., 2000).



Figura 2.6 - Pormenor de filhos em genótipos de *T. aestivum* L.

A inflorescência do trigo é uma espiga composta, dística, formada por espiguetas alternadas e opostas na ráquis. Há grande variação na densidade, forma, comprimento e largura da espiga (Figura 2.7).



Figura 2.7 - Espigas de diferentes variedades de *T. aestivum* L.

Um dos fatores que influencia a tolerância do trigo ao alagamento é o estágio de desenvolvimento em que este stresse ocorre (de San Celedonio et al., 2014b; Pampana et al., 2016). Para avaliar o estágio de desenvolvimento do trigo com precisão, a escala de Zadoks et al. (1974) é universalmente aceite sendo igualmente a mais detalhada (Anexo 1). Esta escala é representada por um código de dois dígitos em que o primeiro representa um dos dez principais estádios de desenvolvimento (Figura 2.8) (0 - Germinação, 1 - Crescimento da plântula, 2 - Afilhamento, 3 - Alongamento, 4 - Emborrachamento, 5 - Emergência da inflorescência, 6 - Antese, 7 - Desenvolvimento do grão leitoso, 8 - Desenvolvimento do grão em massa, 9 - Maturação) e o segundo uma das dez etapas em que cada estágio principal está subdividido (Scheeren et al., 2015).

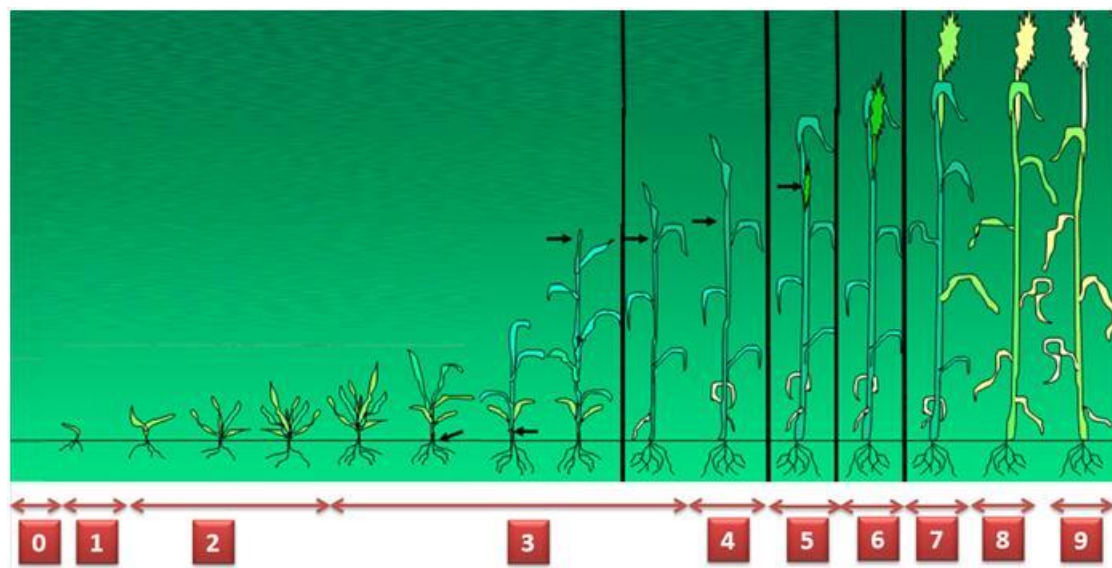


Figura 2.8 - Estádios de desenvolvimento do trigo conforme a escala de Zadoks (1974). Estádios: 0 – Germinação (semente seca a folha no ápice do coleóptilo); 1 – Crescimento da plântula (1ª folha através do coleóptilo a 9 ou mais folhas abertas); 2 – Afilhamento (só o colmo principal a colmo principal e 9 ou mais filhos); 3 – Alongamento (pseudocolmo ereto a lígula da folha bandeira recém visível); 4 – Emborrachamento (bainha da folha bandeira em extensão a 1ª arestas visíveis); 5 – Emergência da inflorescência (1ª espiguetas da inflorescência recém visível a emergência completa da inflorescência); 6 – Antese (início antese a antese completa); 7 - Desenvolvimento do grão leitoso (cariopse aquosa até final do estado leitoso); 8 – Desenvolvimento do grão em massa (início do estado de massa até estado de massa dura); 9 – Maturação (cariopse dura até dormência secundária perdida). Imagem adaptada de <https://www.nextgurukul.in/questions-answers-forum/question/academic/Draw-a-chart-to-show-the-stages-in-growing-a-cereals/132433>.

2.2. Efeito do alagamento no solo

O solo é o material não consolidado, mineral ou orgânico, existente à superfície da terra e que serve de meio natural ao desenvolvimento das plantas (Ramos et al., 2016).

O alagamento induz alterações nas características físicas, químicas, eletroquímicas e biológicas do solo, com grande impacto no desenvolvimento da biomassa radicular e, consequentemente, no desenvolvimento vegetativo das plantas (Pierret et al., 2007, de San Celedonio et al., 2016).

O solo é constituído por materiais sólidos, líquidos e gasosos. A parte sólida, composta por partículas organizadas que formam um meio poroso, permite a retenção e a transferência de água e gases no solo (Ramos et al., 2016). A composição ótima de um solo visando o crescimento de plantas deve ser ca. 50 % de materiais sólidos e 50 % de poros (Morales-Olmedo, 2015). Para um bom desempenho fisiológico das plantas as proporções de água e ar devem também ser adequadas (Manik et al., 2019) devendo o ar ocupar 50 % do espaço dos poros (*i.e.* 25 % do volume total do solo) (Morales-Olmedo et al., 2015). Em situações de alagamento estas proporções não são possíveis uma vez que todos os poros estão preenchidos apenas com água.

A composição da fase gasosa do solo é semelhante à da atmosfera com exceção das proporções de oxigénio, vapor de água e CO₂, que variam com a profundidade e condições de arejamento de cada solo (Armstrong e Beckett, 2010). Para garantir um desenvolvimento radicular

adequado e assegurar um bom fornecimento de água e nutrientes para a parte aérea, a concentração de oxigênio no solo deve ser superior a 10 % (Brady e Well, 2008) com valor ótimo de 15 % (Morales-Olmedo et al., 2015).

Como resultado da respiração aeróbica das raízes e dos microrganismos, a atmosfera no solo é rica em CO_2 e pobre em O_2 (Morales-Olmedo et al., 2015). Num solo com bom arejamento, a rápida entrada de O_2 e saída de CO_2 impedem que haja deficiência de O_2 ou toxicidade por excesso de CO_2 . Em condições de alagamento, e porque a difusão de gases em água é 10000 vezes mais lenta do que no ar (Greenway et al., 2006), o desenvolvimento radicular é fortemente afetado quer pela deficiência de O_2 necessário à respiração desse órgão quer pela toxicidade resultante da acumulação de CO_2 (quando superior a 10 %) proveniente desse metabolismo (Morales-Olmedo et al., 2015). Este desequilíbrio na zona da raiz tem igualmente consequências em alguns processos metabólicos da planta que incluem a respiração e a fotossíntese (Singh et al., 2019), conduzindo a uma grave deficiência de energia, levando a um crescimento deficiente e à redução do rendimento de grãos (Gibbs e Greenway, 2003).

Além da deficiente troca gasosa entre solo e ar, o alagamento poderá provocar outras alterações no solo que afetam igualmente o desenvolvimento radicular (Herzog et al., 2016). A disponibilidade de nutrientes para as plantas é fortemente afetada com variações do pH do solo (Prasad e Power, 1997; Parent et al., 2008) (Figura 2.9). O aumento do pH reduz a disponibilidade de Fe, Mn e Zn, e aumenta a de Ca e Mo. Para valores de pH entre 6,5 e 8,0 há maior disponibilidade de N, K, Ca, Mg e S. Os elementos B, Cu, Fe, Mn, Ni e Zn estão mais disponíveis entre valores de pH 5,0 a 7,0 e o P entre pH 5,5 a 7,5. O Al e o Mn podem atingir concentrações tóxicas a pH < 5,5, limitando o desenvolvimento das culturas (Prasad e Power, 1997; Setter et al., 2009; Xiao et al., 2014; Herzog et al., 2016).

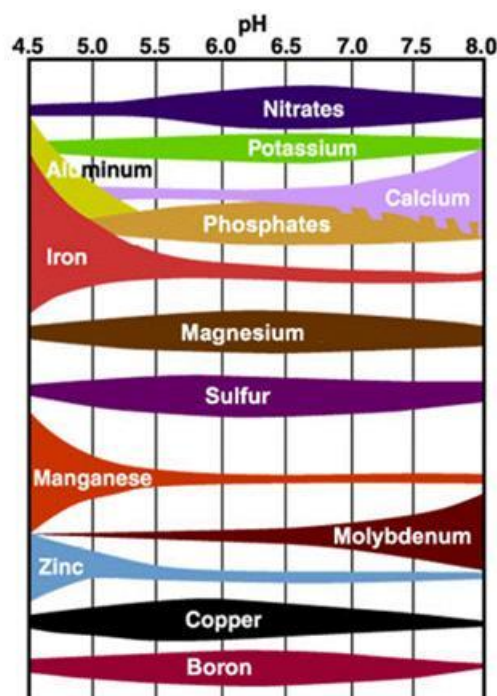


Figura 2.9 - Relação entre o pH_{Ca} do solo e a disponibilidade de nutrientes.
>largura da barra corresponde a > disponibilidade. (Prasad e Power, 1997)

A condutividade elétrica (CE) e o pH são bons indicadores da qualidade do solo (Bünemann et al., 2016). A CE indica a capacidade que o solo tem para conduzir uma corrente elétrica, sendo correlacionável com a concentração de nitrato, sulfato, amônia, K, S, Cl e a disponibilidade de nutrientes no solo. Para solos não salinos ($CE_{1:1, \text{ solo:água}} < 1 \text{ dS m}^{-1}$), a CE pode ser usada para prever a disponibilidade de N para o crescimento das culturas. Uma CE baixa pode indicar escassez de nutrientes, e valores inferiores a $0,10 \text{ dS m}^{-1}$ podem indicar declínio do solo. No entanto é importante que não sejam atingidos valores muito altos pois, em excesso, alguns elementos, especialmente o Na e o Mg, podem ser prejudiciais para a qualidade do solo (Sharma et al., 2012).

2.3. Respostas das plantas ao alagamento

Como referido, o alagamento causa alterações significativas no solo que podem afetar o desenvolvimento radicular, reduzir a energia disponível nas raízes e comprometer a absorção de nutrientes. Os efeitos na parte aérea surgem devido a danos no sistema radicular (Malik et al., 2002; Robertson et al., 2009). As respostas para mitigar a deficiência de O_2 podem ser anatómicas, morfológicas ou fisiológicas (Ploschuk et al., 2018).

2.3.1. Número de Filhos

Diversos autores referem que o alagamento reduz significativamente o crescimento da parte aérea, devido essencialmente à redução do número de filhos e respetivo desenvolvimento (Malik et al., 2001; Collaku e Harrison, 2002; Dickin e Wright, 2008; Robertson et al., 2009; Amri et al., 2014; Herzog et al., 2016).

No trigo, e em condições ótimas de desenvolvimento, o afilhamento é um processo que acontece durante todo o ciclo da cultura surgindo o primeiro filho quando as primeiras 2-3 folhas aparecem no colmo principal (de San Celedonio et al., 2016). No entanto, alguns destes filhos não chegam à fase reprodutiva (Alzueta et al., 2012) havendo uma relação inversa entre o número de filhos emitidos e os que sobrevivem (Berry et al., 2003; Salvagiotti e Miralles, 2007).

Vários autores referem uma redução do número de filhos emitidos em trigo sujeito a alagamento durante a fase de afilhamento, não se traduzindo necessariamente, em alguns genótipos, numa penalização do número dos que são férteis comparativamente com as plantas mantidas em condições ótimas (Malik et al., 2001 e 2002; Collaku e Harrison, 2002; Robertson et al., 2009).

No caso do trigo mole (*T. aestivum* L.) a emissão, o desenvolvimento e a sobrevivência dos filhos são de extrema importância por se relacionarem diretamente com o número de espigas por unidade de área (Valério et al., 2008), refletindo-se no rendimento da cultura. A queda da produtividade pode ser reflexo da pequena participação dos filhos férteis na formação do rendimento final (Valério et al., 2008) tornando-se clara a necessidade de avaliar o impacto do alagamento em todo o ciclo da cultura (de San Celedonio et al., 2016).

2.3.2. Raízes adventícias

Duas funções importantes das raízes são ancorar a planta e permitir a absorção de nutrientes e água no solo. Para tal, as raízes necessitam da energia proveniente da respiração celular

(Fagerstedt et al., 2013). Em condições de alagamento o metabolismo radicular modifica-se passando rapidamente a respiração de aeróbia para anaeróbia. Esta última é muito menos eficiente na produção de energia, conduzindo a uma redução na produção de ATP (Gibbs e Greenway, 2003). Com déficit de energia ao nível da raiz, as reações necessárias para a regulação do fluxo de água na célula ficam comprometidas reduzindo a condutância hidráulica solo-folha (Tan et al., 2018).

Para suprir a falta de O₂ na raiz, algumas plantas tolerantes à hipóxia (baixa concentração de oxigénio) ou à anóxia (sem oxigénio) têm a capacidade de desenvolver adaptações morfológicas (Ayi et al., 2016). Uma resposta comum é a formação de um sistema radicular adventício a partir do caule ou de ramos (Rich et al., 2008, 2012; Calvo-Polanco et al., 2012; Ayi et al., 2016). As raízes adventícias facilitam o transporte dos gases e a absorção de nutrientes e de água durante o alagamento, contribuindo fortemente para a sobrevivência da planta (Sauter, 2013) e para a manutenção da produtividade. Estas raízes absorvem O₂, tornando-o disponível para as raízes submersas, e têm igualmente uma maior aptidão para absorverem nutrientes (Steffens e Rasmussen, 2016). Segundo Wiengweera e Greenway (2004), em plantas de trigo sujeitas a alagamento as raízes adventícias apresentaram uma maior absorção de P e de K comparativamente com as raízes seminais.

As raízes adventícias podem em alguns casos formar aerênquima. Nesta especialização do tecido parenquimatoso, desenvolvem-se grandes espaços intercelulares preenchidos por gases o que aumenta a sua difusão entre as raízes e a parte aérea, com consequente aumento na tolerância e na sobrevivência da planta em condições de alagamento e de déficit de O₂ (Steffens e Rasmussen, 2016).

2.3.3. Trocas gasosas

O potencial máximo de rendimento de uma cultura é fortemente determinado pela disponibilidade de luz, pela eficiência da sua captura e conversão em energia, e pela arquitetura da planta (Simkin et al., 2019). A atividade fotossintética tem um papel crucial no crescimento e produtividade (Singh e Thakur, 2018) mas é também um dos parâmetros mais afetados pelas condições ambientais (Kaiser et al., 2014).

Nas culturas do arroz, do trigo e do milho em condições de stresse a deficiente conversão em energia, refletida numa menor eficiência fotossintética, é a responsável pela redução do rendimento potencial máximo (Long et al., 2006; Zhu et al., 2010; Simkin et al., 2019). Diversos autores referem uma relação positiva entre a taxa fotossintética, a biomassa e o rendimento na cultura do trigo (Kruger e Volin, 2006; Driver et al., 2014; Foyer et al., 2017).

A grande sensibilidade dos processos fotossintéticos a situações de stresse resulta em alterações das taxas respiratória e fotossintética (Fortunato et al., 2010; Partelli et al., 2011; Scotti-Campos et al., 2014a; Ramalho et al., 2018; Singh e Thakur, 2018). Estas taxas podem ser utilizadas como indicadores dos efeitos das condições adversas na produtividade.

Em plantas de trigo sujeitas a alagamento foi observada uma redução do desempenho fisiológico (*i.e.*, da fotossíntese, da respiração e da transpiração) da parte aérea como consequência do deficiente funcionamento da raiz. O fecho estomático, a redução da transpiração e a inibição da fotossíntese são respostas comuns a este constrangimento ambiental (Zheng et al., 2009; Bhagat et al., 2014; Soleh et al., 2018).

A condutância estomática (gs) é um dos principais fatores que afetam a fotossíntese (Medrano et al., 2002), com grande impacto nas taxas fotossintéticas em condições de alagamento (Striker et al., 2005). De facto, o fecho estomático e consequente decréscimo da gs provocam uma redução da perda de água por transpiração mas, simultaneamente, uma menor concentração interna de CO₂, o que reduz as taxas fotossintéticas e aumenta a respiração, influenciando negativamente a produção.

Nas plantas suscetíveis ao alagamento, há uma redução drástica das atividades fisiológicas conduzindo frequentemente à morte celular, enquanto que nas tolerantes a afetação é menor ou, em alguns casos, pode haver uma melhoria na resposta de alguns parâmetros (Malik et al., 2001; Zaidi et al., 2004).

2.3.4. Pigmentos fotossintéticos

Os pigmentos fotossintéticos têm um papel importante para as plantas principalmente na captura de luz e na produção de compostos redutores (Anjum et al., 2011). Alterações da concentração de clorofilas e carotenóides podem ajudar a proteger as plantas de stresses ambientais (Barickman et al., 2019).

2.3.4.1. Teor relativo de clorofila - SPAD

As clorofilas, pigmentos responsáveis pela captura de luz usada na fotossíntese, são essenciais à conversão da radiação luminosa em energia química. Relacionam-se diretamente com a eficiência fotossintética das plantas e por isso com seu crescimento e adaptabilidade aos diferentes ambientes (Anjum et al., 2011)

O medidor de clorofila "*Soil Plant Analysis Development*" (SPAD) permite, de uma forma não destrutiva, estimar o teor relativo de clorofilas das folhas, que é diretamente correlacionável com o seu teor absoluto (Jesus e Marengo, 2008).

2.3.4.2. Teor absoluto de clorofila e carotenóides

A produção de biomassa é diretamente afetada pelo desempenho fotossintético e este, por sua vez, reflete o teor dos pigmentos fotossintéticos.

Um dos primeiros sinais visíveis do alagamento é a rápida clorose das folhas da base da planta. Este amarelecimento, que precede a senescência prematura das folhas (Manik et al., 2019), ocorre devido à remobilização de N para as folhas mais jovens (Herzog et al., 2016). Nas restantes folhas o decréscimo do teor de clorofila é um indicador de stresse oxidativo e pode ser resultado de foto oxidação (Anjum et al., 2011)

Os carotenóides desempenham várias funções importantes na célula. Enquanto pigmentos fotossintéticos capturam a energia luminosa e transferem-na para as moléculas de clorofila no processo da fotossíntese (Hashimoto et al. 2016). Através do ciclo da xantofila, têm um papel na proteção dos fotossistemas I e II nas membranas tilacoidais (Logan et al, 2007; Latowski et al. 2011; Barickman et al., 2019). Pela sua ação antioxidante, contribuem para a neutralização dos efeitos negativos das espécies reativas de oxigénio (ROS) (Ashraf, 2012), cuja produção é estimulada durante o alagamento.

Em cada espécie vegetal, a concentração de carotenóides é definida por atributos genéticos, bioquímicos e fisiológicos mas também por stresses ambientais de que o alagamento é

exemplo (Avola et al., 2008). Vários estudos em plantas de trigo referem que o alagamento induziu um decréscimo das concentrações destes pigmentos fotossintéticos (Collaku et al., 2002; Ploschuk et al., 2018; Alizadeh-Vaskasi et al., 2018).

2.3.5. Açúcares

Pela fotossíntese (Pn), as plantas convertem o CO₂ e a água em açúcares, que servem como fonte primária de energia (Singh e Thakur, 2018). O alagamento pode provocar alterações na Pn e na respiração, com consequências no metabolismo dos açúcares e na energia disponível (Fukao et al., 2019), podendo limitar o subsequente desenvolvimento das plantas.

2.3.6. Impacto nas membranas

Os stresses bióticos e abióticos são frequentemente acompanhados de stresse oxidativo, sendo comum o aumento de ROS que se acumulam nas células e que podem conduzir a danos membranares devido a fenómenos de lipoperoxidação (Campos et al., 2003; Duro et al., 2016). A manutenção da integridade membranares assegura a compartimentação celular e o adequado funcionamento dos processos metabólicos (Duro et al., 2016; Scotti-Campos et al., 2016). Os stresses bióticos e/ou abióticos podem comprometer a preservação das membranas refletindo-se numa menor capacidade de sobrevivência das plantas face a esses constrangimentos, de que é exemplo o défice de O₂ em condições de alagamento (Blokina e Fagerstedt, 2010; Yadav et al., 2015).

2.3.6.1. Teste de fuga de eletrólitos

A avaliação da fuga de eletrólitos é um teste amplamente utilizado para determinar o grau de dano membranares induzido pelos stresses, podendo ser usado como indicador de tolerância (Lee e Zhu, 2010; Demidchik et al., 2014). Segundo Shabala (2011) o aumento da perda de eletrólitos pode ser desencadeado em resposta a condições de alagamento.

2.3.6.2. Lípidos membranares

A integridade membranares depende muito das modificações qualitativas e quantitativas que ocorrem na matriz lipídica em resposta aos stresses (Dias et al., 2010; Scotti-Campos et al., 2011). Plantas tolerantes ao alagamento têm a capacidade de aumentar o grau de insaturação dos lípidos membranares (Generosova e Vartapetian, 2005) assim como de sintetizar lípidos em condições de anóxia (Blokina e Fagerstedt, 2010).

2.3.6.3. Lipoperoxidação

A peroxidação lipídica, ou lipoperoxidação, pode ser descrita como um processo pelo qual moléculas com elevada capacidade oxidativa (ROS) degradam duplas ligações carbono-carbono nos lípidos. As membranas celulares que contêm teores elevados de ácidos gordos polinsaturados (PUFA), como é o caso nos cloroplastos, são muito suscetíveis à lipoperoxidação (Ayala et al., 2014; Duhan et al., 2019). A peroxidação lipídica produz diversos produtos de oxidação (Ayala et al., 2014). Entre os vários aldeídos formados, o malonildialdeído (MDA) é facilmente quantificável por espectrofotometria devido à sua reação com o ácido tiobarbitúrico (Hodges et al., 1999; Song et al., 2016), sendo amplamente utilizada como um

biomarcador de danos celulares decorrentes do stresse oxidativo (Talbi et al. 2015). Os tecidos menos afetados apresentam menores teores de MDA, refletindo uma maior tolerância ao stresse oxidativo (Duhan et al., 2019).

Em trigo, o alagamento induz a produção de ROS (Figura 2.10) conduzindo ao aumento do stresse oxidativo (Bali e Sidhu, 2019). Este aumento reflete-se em maiores concentrações de MDA o que sugere a ocorrência de fenômenos de lipoperoxidação (Nikolaeva et al., 2010).

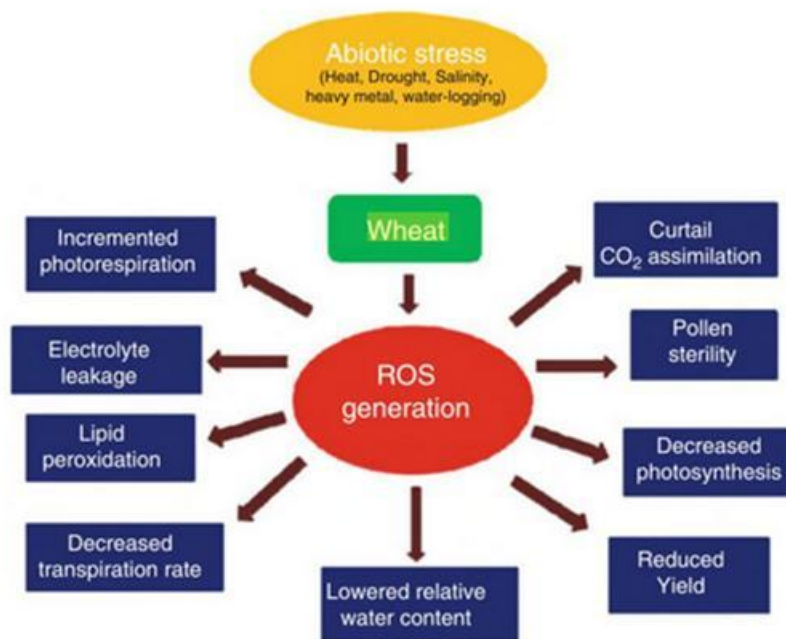


Figura 2.10 - Stresses abióticos induzem produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) com efeitos em diferentes parâmetros do trigo (Bali e Sidhu, 2019).

2.4. Efeito do alagamento na produção

Dependendo da variedade de trigo, do estágio de desenvolvimento e da duração do alagamento, a resposta das plantas a este fator e o seu impacto na produção pode variar (Amri et al., 2014; de San Celedonio et al., 2014b).

Como referido anteriormente, em condições de alagamento, a redução da Pn, gs e E (Zheng et al., 2009) restringe o metabolismo dos açúcares em toda a planta. Como resultado, há decréscimo na biomassa e na produção de grãos (Malik et al., 2002; Pampana et al., 2016). Vários estudos apontam para uma correlação entre o rendimento do trigo alagado e a matéria seca da parte aérea, que por sua vez está fortemente relacionada com o número de filhos da planta (Collaku e Harrison, 2002; Hayashi et al., 2013). Este último parâmetro determina o número de espigas por planta que por ultimo afetará a produção final (de San Celedonio et al, 2014b).

2.4.1. Número de espigas planta⁻¹

Este parâmetro é influenciado pelo número de filhos que sobrevivem para formar espigas que atingem a maturação. Um aumento do número de espigas por planta pode significar maior

taxa de afilhamento ou maior taxa de sobrevivência dos filhos emitidos. Em plantas suscetíveis ao alagamento este parâmetro é afetado negativamente (Marashi e Chinchani, 2010).

2.4.2. Número de grãos espiga⁻¹

Do ponto de vista fisiológico, o número de grãos por espiga é o resultado do número de espiguetas e do número de grãos produzidos em cada espiguetas. O número de grãos formados em cada espiga é influenciado pela disponibilidade de nutrientes e pelas condições ambientais. Com o alagamento podem surgir flores estéreis que contribuem para a redução do número de grãos por espiga (Hossain e Uddin, 2011)

2.4.3. Peso do hectolitro (PH)

Um dos parâmetros utilizados para indicar a qualidade da semente de trigo é a massa do hectolitro, que corresponde aos quilogramas de grão num volume de 100 litros. O PH do trigo é uma medida com grande importância na comercialização do produto, uma vez que os preços praticados consideram este parâmetro como um indicador de qualidade. Valores baixos de PH revelam grãos mal formados, impurezas ou deficiente enchimento dos grãos. Por outro lado o PH permite também estimar o rendimento na extração de farinha (Ilker et al., 2009; Ormond et al., 2013), que será tanto maior quanto maior for a massa do hectolitro da amostra (Ormond et al., 2013).

2.4.4. Peso de mil grãos (PMG)

De grande importância no desenvolvimento de novas variedades, o PMG é uma medida que apresenta forte controle genético (Wu et al., 2018) estando relacionado com o vigor de novas plantas, afetando assim o crescimento e a produção de novas sementeiras (Botwright et al., 2002).

Este parâmetro está diretamente relacionado com a produção e a qualidade para moagem sendo frequente a sua utilização como indicador de produtividade e de qualidade (Li et al., 2004). O PMG está associado ao tamanho do grão (comprimento, largura, espessura) e à razão comprimento/largura do grão sendo influenciado pela eficiência do seu enchimento (Dholakia et al., 2003). Em condições de alagamento é frequente uma redução do seu valor (Pfeiffer et al., 2005).

3. Material e Métodos

3.1. Material vegetal e condições de crescimento

3.1.1. Germoplasma

O germoplasma utilizado no presente ensaio foi selecionado a partir de um grupo de 73 genótipos provenientes do INIAV-Elvas (Unidade de Biotecnologia e Recursos Genéticos), e previamente testado em estufa na mesma Unidade (Laboratório de Fisiologia Vegetal, INIAV-Oeiras) para a tolerância a dois níveis de alagamento parcial, no âmbito do programa de melhoramento de trigo do Instituto.

Neste contexto foram escolhidos 15 genótipos de trigo mole (*Triticum aestivum* L.): Alentejano (Alent.), Mocho Cabeçudo (MC), Restauração (Rest.), Chaimite (Ch.), Nabão (Nab.), Orion (Or.), Sunvale (Sunv.), BT-Schomburgk (BT-S), Excalibur (Exc.), Ducula/Gondo//Sokol (D/G//S), Kldr/Pewit1//Milan/Ducula (K/P//M/D), Gus/3/Prl/Sara/Tsi/Vee#5/... (G/...), Arpige (Arp.), Solehio (Sol.) e Soissons (Sois.) para avaliação do impacto de 14 dias de alagamento total em condições ambientais controladas.

3.1.2. Instalação do ensaio

Para cada genótipo foram semeadas 10 sementes por vaso, a 2 cm de profundidade, em 6 vasos de 5 L contendo terra proveniente de solo franco argiloso colhido no campo (Figura 3.1 A). Sete dias após sementeira foram retiradas as plântulas que aparentavam menor vigor, deixando 7 plantas por vaso (Figura 3.1 B).

As plantas cresceram numa câmara de crescimento *Walk-in* (Fitoclima 10000 EHHF, ARA-LAB, Portugal) em condições controladas de temperatura (22/15 °C, dia/noite), irradiância (ca. 800 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), humidade relativa (HR 70/75 %, dia/noite), fotoperíodo (14 h) e CO_2 (400 $\mu\text{L L}^{-1}$). Após emergência, as plantas foram mantidas em conforto hídrico com capacidade campo de ca. 85 % (Scotti-Campos et al., 2015), exceto no período de alagamento para as plantas sujeitas a esse stresse.

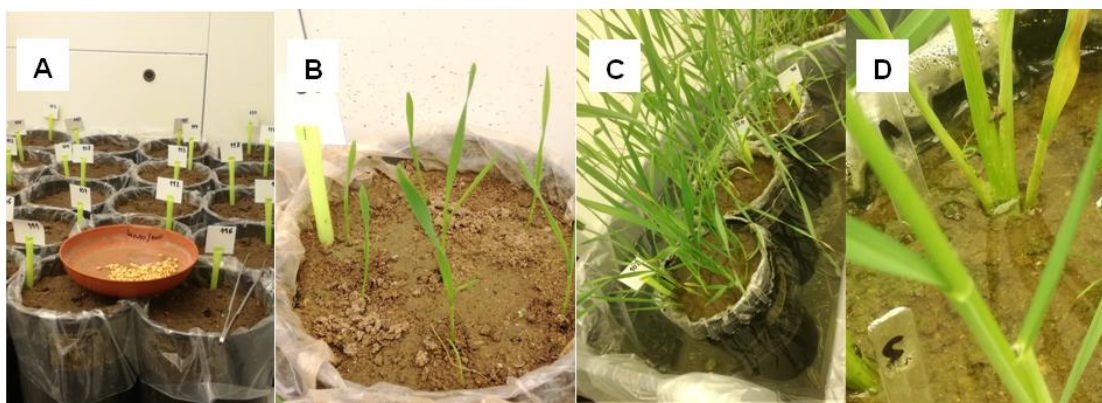


Figura 3.1 - Várias fases do estudo: Sementeira (A); Número final de plantas por vaso (B); Alagamento dos vasos em caixas (C); Filme de água 0,5 cm acima do solo (D).

Quando as plantas apresentavam o colmo principal e 2 filhos (Escala de Zadoks 22) foram marcadas 3 plantas por vaso (das 7 existentes) para as determinações de SPAD, trocas gasosas foliares, contagem de filhos e de raízes adventícias, e avaliação dos parâmetros de produção.

Quando as plantas se encontravam em franco afilhamento (Escala de Zadoks 23 a 25), 3 vasos de cada genótipo foram mantidos em conforto hídrico (plantas controle) e os restantes 3 sujeitos a alagamento total. Para tal, os vasos foram colocados dentro de caixas plásticas (Figura 3.1 C) e alagados até se obter um filme de água acima da superfície do solo de ca. de 0,5 cm (Figura 3.1 D). Este nível foi mantido durante 14 dias, sendo acrescentada água sempre que necessário. No 14º dia suspendeu-se o alagamento (T14) retirando os vasos das caixas.

As variedades Arp., Sol., Sois. e Or necessitam de vernalização (exposição a baixas temperaturas) para induzir a floração. Assim, duas semanas após a suspensão do alagamento, estas variedades foram transferidas para outra câmara de crescimento (Fitoclima EDTU 700, Aralab, Portugal) e sujeitas a uma redução gradual da temperatura, sem alteração das condições de irradiância, HR, fotoperíodo e CO₂. As plantas foram mantidas a 15/4 °C (dia/noite) durante 14 dias e depois transferidas para a fitoclima original.

Todas as plantas foram adubadas semanalmente com 250 mL de uma solução de 12 % N, 4 % P e 6 % K (COMPLESAL, Bayer), a partir do 14º dia após suspensão do alagamento (T14 R) e até ao final do ciclo produtivo.

3.2. Métodos

3.2.1. Capacidade de campo

A capacidade de campo do solo corresponde ao teor de água na zona das raízes a partir do qual a drenagem se torna quase nula. Neste ponto o solo retém o máximo de água que pode conter (Lopez e Barclay, 2017). A humidade do solo deve ser mantida dentro de limites próximos da capacidade de campo, onde a energia que as plantas gastam para extrair a água do solo é mínima, a evapotranspiração da cultura atinge os seus valores potenciais e a produção final é maximizada (Ramos et al., 2016).

Para quantificação da capacidade de campo foi utilizado o método gravimétrico. Os vasos foram pesados vazios e só depois preenchidos com a mesma quantidade de solo crivado. De seguida colocaram-se dentro de pratos (para reterem água de escorrimento) e foram regados até à saturação para que todo o ar existente entre os poros do solo fosse expelido. Após 12 h de escorrência, para garantir a saturação por capilaridade, o prato foi retirado e os vasos deixados a drenar durante 48 h. Os vasos foram pesados individualmente. Ao valor obtido foi retirada a tara do vaso e considerado como 100% de capacidade campo (Dumroese et al., 2015). Para manter a cultura em 85 % de capacidade campo, foi feito o cálculo individual para cada vaso. Durante todo o estudo a rega respeitou estes valores.

3.2.2. Amostras de solo

Foram recolhidas amostras de solo de cada vaso (Figura 3.2) com um furador de 1,5 cm de diâmetro e 10 cm de comprimento, em 2 zonas opostas, nos dias de início e fim do alagamento (T0 e T14, respetivamente). As amostras foram desidratadas a 105 °C durante 24 h,

em estufa com ventilação, arrefecidas em exsiccador, homogeneizadas num almofariz de porcelana e posteriormente passadas por um crivo de *nylon* (2 mm de poro). Foram mais uma vez desidratadas 24 h a 105 °C, arrefecidas e mantidas em exsiccador até análise.

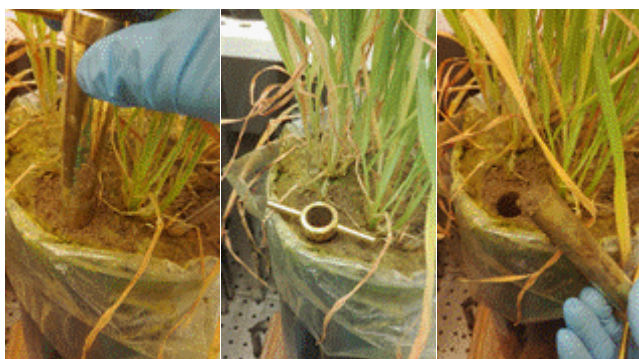


Figura 3.2 - Recolha de amostras de solo para análise.

3.2.2.1. Detecção de elementos minerais por espectrometria de fluorescência de raios X (XRF)

Para a determinação dos elementos minerais (macro e micronutrientes) presentes no solo, utilizou-se um analisador portátil de raio-X (*Niton Thermal Scientific, modelo Xlt, EUA*). O XRF consiste numa fonte de excitação, num porta amostra, num detector e analisador e num processador. A avaliação foi realizada através da deteção energética de eletrões, segundo o espectro eletromagnético na gama dos raios-X emitidos pelos elementos que constituem a amostra (Figura 3.3). Cada amostra é colocada numa cuvete própria e coberta por uma película transparente, e a leitura ocorre após emissão de radiação durante 180 s, numa atmosfera enriquecida em hélio. Os dados foram tratados com o *software NITON Data Transfer – XL 3t-36653*.

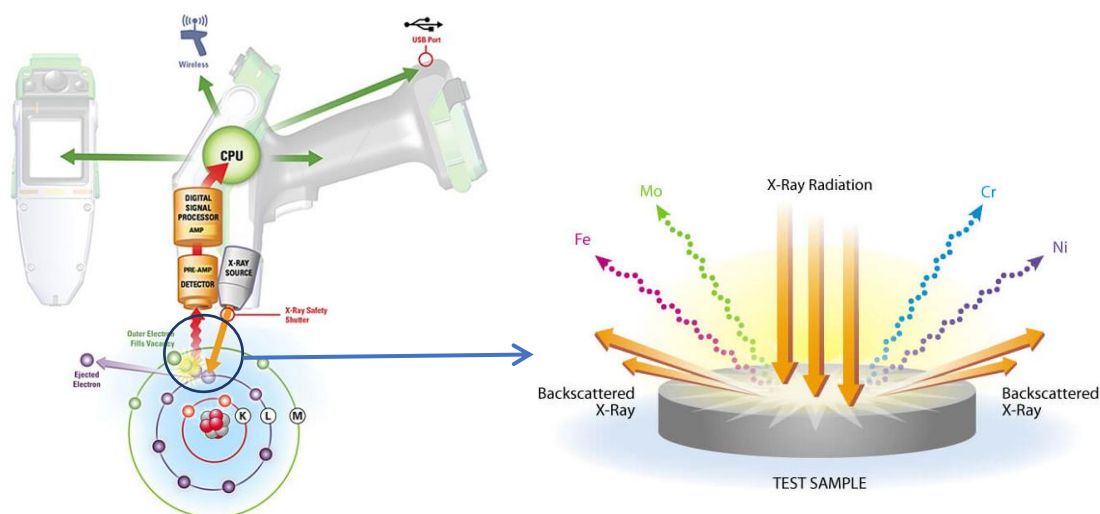


Figura 3.3 - Representação esquemática de um detetor de minerais por espectrometria de fluorescência de raios X portátil (XRF) *Niton Thermal Scientific*. Adaptado de <https://www.911metallurgist.com/blog/portable-xrf-analyzer>.

3.2.2.2. pH em 0,01 M CaCl₂

A determinação do pH do solo numa solução de CaCl₂ 0,01 M (pH_{Ca}) é mais rigorosa comparativamente à determinação em água (pH_w), uma vez que é menos afetada pela concentração de eletrólitos no solo e reflete as condições a que a planta está sujeita (Minasny et al., 2011). Os valores de pH_{Ca} são inferiores aos encontrados em pH_w (0,5 a 0,9).

A determinação do pH do solo foi realizada segundo Minasny et al. (2011) com algumas modificações. Em frascos de vidro com tampa de rosca, misturou-se solo e CaCl₂ (0,01 M) na proporção de 1:5 (p/v). Agitou-se em vortex 5 min e seguidamente em agitador orbital (100 rpm) durante 60 min a 25 °C. Colocaram-se os frascos num banho térmico (25 °C) com agitação suave durante 30 min. Após 2 h de decantação, o pH foi lido num potenciómetro (InoLab pH Level 1, WTW, Alemanha) e expresso como pH_{Ca}.

3.2.2.3. Condutividade elétrica (CE)

Em frascos de vidro com tampa de rosca, misturou-se solo e água ultrapura (Tipo I, Milli-Q) na proporção de 1:2,5 (Norma AFNOR NFX 31-103, 1988; Pessoa et al., 2016). Agitou-se em vortex 5 min e seguidamente em agitador orbital (100 rpm) durante 60 min à temperatura ambiente. Colocaram-se os frascos num banho térmico (25 °C) com agitação suave durante 30 min, deixando-se de seguida decantar durante 2 h. O valor da CE foi determinado a 25 °C, num condutivímetro (Crison GLP 31, Crison Instruments, Espanha) e expresso em mS cm⁻¹.

3.2.3. Determinações na planta

As determinações do número de filhos e de raízes adventícias, SPAD, trocas gasosas foliares e parâmetros de produção foram realizadas nas plantas previamente marcadas em cada vaso, num total de 9 plantas controlo e 9 plantas em alagamento, para cada genótipo.

Ao 14º dia de alagamento (T14) foram colhidas, por vaso, as 4 plantas não marcadas, e destacadas as 3 folhas maduras recém expandidas de cada colmo. As folhas foram cortadas em secções de ca. 1 cm de comprimento e feito um *pull* de material vegetal para cada vaso. As determinações de PF/PS, fuga de eletrólitos e pigmentos fotossintéticos foram feitas de imediato. No caso dos açúcares solúveis, lípidos membranares e MDA as amostras foram pesadas, imediatamente congeladas em azoto líquido e guardadas em câmara a -80 °C até processamento. O material vegetal restante foi desidratado para posterior quantificação dos elementos minerais.

3.2.3.1. Número de filhos

O número de filhos foi contabilizado em todos os vasos nos dias de imposição e de final do alagamento (T0 e T14, respetivamente), 14 dias após suspensão do alagamento (14 R) e férteis no final do ciclo.

3.2.3.2. Raízes adventícias

O número de raízes adventícias foi contabilizado em todos os vasos no início (T0) e após 2, 4, 7 e 14 dias de alagamento (T2, T4, T7 e T14, respetivamente).

3.2.3.3. SPAD

O teor relativo de clorofila foi determinado na folha mais jovem completamente expandida aos T2, T7, T14 e T14 R com um medidor de clorofila *Soil Plant Analysis Development* (SPAD-502, Minolta, Japão) em todos os vasos.

O SPAD-502 é um dispositivo portátil que mede, de forma rápida, precisa e não destrutiva, o teor relativo de clorofila foliar (Süß et al., 2015) com base na absorvância e na transmitância de radiação em duas regiões do espectro eletromagnético (Padilla et al., 2018).

O SPAD-502 determina a concentração de clorofila medindo a absorvância das folhas nas regiões vermelha e infravermelha próxima. A luz é emitida por dois LEDs com comprimentos de onda (650 e 940 nm) e detetada, depois de passar pela folha, por um fotodíodo quando a cabeça de medição está fechada (Ling et al., 2011; Süß et al., 2015) (Figura 3.4 A). A 650 nm, a absorvância das clorofilas é muito eficiente e não é afetada pelos carotenóides, servindo este sinal para o cálculo do teor relativo de clorofila. A 940 nm a absorvância das clorofilas é extremamente baixa sendo o seu sinal usado como um fator de correção para compensar a absorção a 650 nm por moléculas do tecido foliar desprovidas de clorofila (Jesus e Marengo, 2008; Ling et al., 2011). Quando a luz passa pela folha, uma certa quantidade é transmitida (Figura 3.4), atinge o recetor, é convertida em sinais elétricos que permitem o cálculo do valor numérico SPAD. Este valor corresponde ao conteúdo relativo de clorofila (Süß et al., 2015) e é proporcional à quantidade de clorofila na amostra (Argenta et al., 2001; Uddling et al., 2007; Ling et al., 2011).

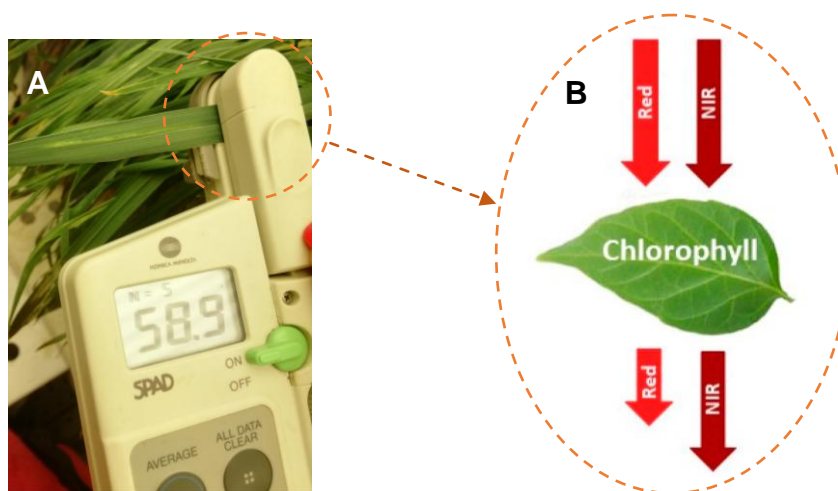


Figura 3.4 – Medição do teor relativo de clorofila numa folha de *T. aestivum* L. (A) com um medidor de clorofila *Soil Plant Analysis Development* (SPAD-502, Minolta, Japão) e respetivo princípio de funcionamento (B). Imagem B adaptada de Padilla et al. (2018).

3.2.3.4. Trocas gasosas foliares

A maioria dos gases e vapores orgânicos heteroatômicos têm uma capacidade de absorção na região do infravermelho. Assim, a taxa de assimilação de CO₂ pela planta pode ser quantificada com um analisador de gases por infravermelhos (IRGA, *Infra Red Gas Analyser*), que mede a variação da concentração de CO₂ após a passagem do ar numa câmara iluminada contendo a folha. No presente trabalho foi utilizado um IRGA portátil (Li- Cor 6400, LiCor, Lincoln, NE, EUA) com fornecimento externo de CO₂ (400 µL L⁻¹), irradiância artificial

por lâmpada *LED* de $800 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, câmara de medição a 25°C , em sistema aberto, utilizando os valores CO_2 e a H_2O do meio ambiente como valores de referência (Figura 3.5). As taxas da fotossíntese líquida (P_n), condutância estomática a vapor de água (g_s) e transpiração (E) foram determinadas na folha mais jovem completamente expandida, de acordo com as equações de von Caemmerer & Farquhar (1981). A eficiência instantânea do uso da água foliar ($i\text{WUE}$) foi calculada como a razão P_n/E , representando as unidades de CO_2 assimiladas por unidade de água perdida pela transpiração (Rodrigues et al., 2016). As medições foram realizadas em todos os vasos (plantas alagadas e não alagadas) aos T14, na câmara fitoclima e após 2 h de iluminação das plantas.

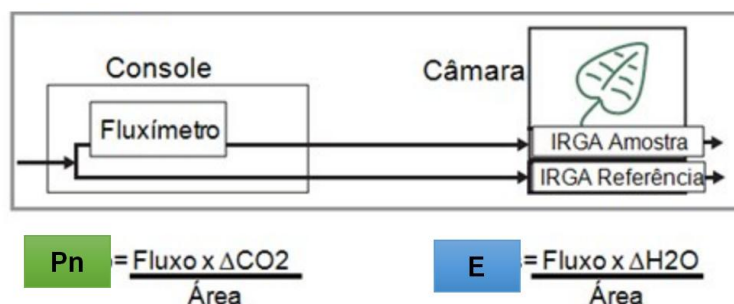


Figura 3.5 – IRGA em sistema aberto: a fotossíntese (P_n) e a transpiração (E) são calculadas a partir das diferenças no CO_2 e H_2O entre a câmara de leitura das folhas e a câmara de referência. Adaptado de Manual Li-Cor 6400, Versão 6.

3.2.3.5. Razão peso fresco/peso seco (PF/PS)

Para a determinação da razão PF/PS, foram pesadas em fresco e por cada vaso, ca. de 200 mg de material foliar cortado em secções de 1 cm, obtendo-se o valor de PF. O valor do peso seco (PS) correspondente foi obtido após desidratação em pesa-filtro, numa estufa (Termaks, Noruega) a 80°C com ventilação, até peso constante (48 h). A razão PF/PS foi utilizada para exprimir os resultados do conteúdo em pigmentos fotossintéticos, açúcares solúveis, lípidos membranares e MDA por peso seco.

3.2.3.6. Fuga de eletrólitos

Para cada vaso e em fresco, 10 secções de folhas (1 cm) foram lavadas duas vezes com água desionizada e colocadas durante 22 h a 25°C em 10 mL de água desionizada. Os valores de condutividade resultantes dos eletrólitos libertados pelas células foram lidos usando um condutímetro (Crison GLP 31, Crison Instruments, Espanha), a 25°C . A condutividade total foi medida após 2 h de exposição da amostra a 90°C numa estufa (BICA-SA, Itália) seguida de arrefecimento até 25°C . A fuga de eletrólitos, que reflete o índice de dano membranal (I%), foi expressa como uma percentagem da condutividade total (Scotti-Campos et al., 2011).

3.2.3.7. Clorofila total e carotenóides

Para a quantificação da clorofila total e dos carotenóides cortaram-se 3-5 secções foliares de 1 cm (ca. de 50 mg PF) por cada vaso, que se colocaram em frascos de vidro com tampa de teflon contendo 10 mL de metanol a 100 %, mantidos a 4°C e às escuras. Após extração

total dos pigmentos (72 h), a sua concentração foi determinada espectrofotometricamente (Shimadzu UV160A, Japão) contra um branco (metanol 100%) nos comprimentos de onda 665,2 e 652,4 nm para as clorofilas a e b, respetivamente, e 470 nm para os carotenóides, de acordo com as equações de Lichtenthaler (1987).

Clorofila a = $16.72 \times \text{Abs. } 665.2 - 9.16 \times \text{Abs. } 652.4$

Clorofila b = $34.09 \times \text{Abs. } 652.4 - 15.28 \times \text{Abs. } 665.2$

Clorofila a+b = $1.44 \times \text{Abs. } 665.2 - 24.93 \times \text{Abs. } 652.4$

Carotenóides = $(1000 \times \text{Abs. } 470 - 1.63 \times \text{Clorofila a} - 104.96 \times \text{Clorofila b})/221$

3.2.3.8. Açúcares solúveis

A quantificação dos açúcares solúveis foi realizada com base no método de Damesin e Lelarge (2003) com algumas modificações, como descrito em Ramalho et al., 2013 e Partelli et al., 2010. Amostras de ca. 150 mg PF, previamente congeladas em azoto líquido e mantidas a -80 °C, foram pulverizadas em almofariz com azoto líquido e maceradas com 2 mL de H₂O fria ultrapura (Milli-Q, Tipo I) e 50 mg de polivinilpolipirrolidona. Após 20 min em gelo e com agitação de 100 rpm. para melhor extração, foram centrifugadas (centrífuga Biofuge 28 RS, Heraeus Sepatech) durante 5 min a 12000 g e 4 °C. O sobrenadante foi recolhido para tubo de centrífuga de 2 mL com tampa. O sobrenadante foi sucessivamente submetido a 100 °C por 3 min em banho-maria, colocado em gelo por 6 min, centrifugado (12000 g, 15 min, 4 °C) e filtrado (filtro de nylon Millipore, 0.45µm), antes da análise por cromatografia líquida de alta eficiência (*High-Performance Liquid Chromatography, HPLC*). Aliquotas de 50 µL foram injetadas num sistema HPLC (Waters, EUA) equipado com um detetor refratométrico (Waters 2414, EUA), uma coluna em fase reversa Sugar-Pak I (Waters 300x6.5mm) e respetiva pré-coluna (SugarPak II inserts, Wat 015209) a 90 °C. Como eluente foi usada uma solução de 50 mg EDTA-Ca L⁻¹ H₂O ultrapura, num fluxo isocrático de 0,5 mL min⁻¹, durante 22 min. Os principais açúcares foram identificados usando padrões de sacarose (Sigma), glucose (Merck) e frutose (Merck). Para a quantificação foi feita uma curva de calibração por açúcar em análise. Para tal preparou-se uma solução padrão com os açúcares referidos, em concentrações conhecidas, procedendo-se a 7 diluições para cada um (sacarose: 51 a 505 mg mL⁻¹; glucose: 27 a 268 mg mL⁻¹; frutose: 27 a 273 mg mL⁻¹). Foram injetados 50 µL de cada diluição nas mesmas condições das amostras.

3.2.3.9. Lípidos das membranas foliares

A extração dos lípidos totais (LT) das membranas celulares foi realizada como descrito em Scotti-Campos et al. (2014b). Amostras foliares de ca. 1 g PF, previamente congeladas em azoto líquido e mantidas a -80 °C, foram fervidas em 10 mL de água ultrapura (Milli-Q, Tipo I) durante 2 min para parar a atividade lipolítica. A extração da fração lipídica foi realizada por maceração em almofariz com 30 mL de uma mistura de clorofórmio/metanol/água (1/1/1; v/v/v), seguida de centrifugação a 15000 g, 15 min, 4 °C e recolha com pipeta de Pasteur da fase inferior (contendo os lípidos) para frasco de vidro com tampa. Este extrato foi levado à secura em banho termostático a 40 °C sob corrente de N₂, e o resíduo seco ressuspensionado em 1 mL de etanol/tolueno (1/4, v/v) e guardado a -30 °C.

Para análise dos ácidos gordos totais (AGT), alíquotas de 100 µL dos LT foram pipetadas para tubos de vidro com tampa de rosca e septo de teflon, saponificadas com 4 mL de hidróxido de sódio 0,5 M em metanol (NaOH 0,5M-Metanol) a 65 °C durante 15 min e arrefecidas em água corrente para parar a reação. Foram adicionados 100 µg de ácido heptadecanóico (C17:0) como padrão interno e as amostras metiladas com 2 mL de trifluoreto de boro (BF₃-Metanol) nas mesmas condições da saponificação. Após adição à mistura de 10 mL de pentano e 2 mL de água, agitação no vortex (30 s) e decantação (60 min), recolheu-se a fase superior (pentânica), contendo os ésteres metílicos de ácidos gordos (AG), com uma pipeta de Pasteur para tubo de vidro com tampa de rosca e septo de teflon. Depois de evaporado o pentano em banho termoestabilizado a 40 °C sob corrente de N₂, as amostras foram ressuspensas em 50 µL de etanol:tuoleno (1/4, v/v) e guardadas em frascos de vidro, em atmosfera de N₂ a -30 °C até injeção.

As amostras dos AG metilados foram injetadas (1 µL por cada amostra) num cromatógrafo gasoso equipado com um detector de ionização de chama (GC-FID, CP-3380, Varian, CA, EUA) e os AG separados numa coluna capilar DB-Wax (J & W Scientific, EUA) com 0.25 mm de diâmetro interno, 30 m comprimento e 0.25 µm de espessura de filme, com subida programada da temperatura de 80 a 200°C, a uma taxa de 12 °C min⁻¹, após 2 min à temperatura inicial. As temperaturas do injetor e do detector foram 200 e 250 °C, respetivamente. O gás de arraste foi hidrogénio com fluxo de 1 mL min⁻¹ numa razão de *split* de 1:100 da amostra. Os AG foram identificados por comparação com padrões conhecidos (Sigma, USA). Os valores de AGT correspondem à soma dos AG individuais: ácidos linolénico (C18:3), linoleico (C18:2), oleico (C18:1), esteárico (C18:0), palmitoleico (C16:1) e palmítico (C16:0).

O grau de insaturação dos AGT foi calculado pelo *Double Bond Index* (DBI), segundo a fórmula: $DBI = [(\% \text{ monoenes} + 2 \times \% \text{ dienes} + 3 \times \% \text{ trienes})/\% \text{ AG saturados}]$ (Mazliak, 1983).

3.2.3.10. Lipoperoxidação - MDA

A extensão da peroxidação lipídica nas membranas celulares foi estimada quantificando o MDA (malonildialdeído) segundo Hodges et al. (1999). Este método considera a possível influência de compostos interferentes na reação com o ácido tiobarbitúrico.

Amostras foliares de ca. 200 mg PF, previamente congeladas em azoto líquido e mantidas a -80 °C, foram pulverizadas em almofariz com azoto líquido, maceradas com 5 mL de uma mistura de etanol:H₂O (80/20, v/v) e centrifugadas durante 10 min a 3000 g e 4 °C.

Para a quantificação foram feitas duas reações sequenciais em tubos de 2 mL com tampa:

1ª) 250 µL do sobrenadante + 750 µL de etanol:H₂O (80/20, v/v) + 1 mL solução de ácido tricloroacético (TCA) a 20 % (p/v) com hidroxitolueno butilado (BHT) a 0,01% (p/v);

2ª) 250 µL do sobrenadante + 750 µL de etanol:H₂O (80/20, v/v) + 1 mL solução de TCA a 20 % (p/v) com hidroxitolueno butilado (BHT) a 0,01% (p/v) e TBA a 0,65 % (p/v).

Após agitação em vortex, os tubos foram colocados em banho-maria a 95 °C durante 25 min, arrefecidos em gelo e centrifugados 10 min a 3000 g e 4 °C. As absorvâncias foram lidas espectralmente (Shimadzu UV160A, Japão) em 3 comprimentos de onda

(440, 532 e 600 nm) contra um branco (reação feita com 1 mL de etanol:H₂O (80/20, v/v) e respectiva mistura de reação, e processado da mesma forma que as amostras.

Para a quantificação do MDA procedeu-se aos seguintes cálculos (Hodges et al., 1999):

$\text{MDA (nmol.mL}^{-1}) = (A-B/157000).10^6$, onde

$A = [(\text{Abs } 532 \text{ b}) - (\text{Abs } 600 \text{ b}) - (\text{Abs } 532 \text{ a} - \text{Abs } 600 \text{ a})]$

$B = [(\text{Abs } 440 \text{ b} - \text{Abs } 600 \text{ b}).0.0571]$

3.2.3.11. Elementos minerais foliares por XRF

Para a determinação dos elementos minerais, foram colhidas todas as folhas das 4 plantas destacadas de cada vaso, a que se juntou material vegetal remanescente (seções foliares de 1 cm) não utilizado nas determinações bioquímicas. As amostras foram desidratadas em estufa (Termaks, Noruega) a 80 °C com ventilação, até peso constante (48 h), e arrefecidas num exsiccador.

Em almofariz de porcelana, as folhas desidratadas foram pulverizadas com azoto líquido. Após passagem por crivo de nylon (2 mm) foram novamente desidratadas 48 h a 80 °C, arrefecidas e mantidas em exsiccador até análise.

Cada amostra foi colocada numa cuvete própria, procedendo-se como descrito em 3.2.2.1.

3.2.4. Rendimento e componentes da produção

No final do ciclo, as plantas foram colhidas individualmente e colocadas em estufa (Termaks, Noruega) com ventilação a 35 °C durante 72 h (Scotti-Campos et al., 2015), após o que se procedeu à determinação de alguns parâmetros da produção.

3.2.4.1 Número de espigas planta⁻¹

De cada planta foram destacadas as espigas, obtendo-se o número médio de espigas por planta.

3.2.4.2. Número de grãos espiga⁻¹

As espigas destacadas foram pesadas individualmente, debulhadas manualmente e o número de grãos contabilizado, obtendo-se a produção média de grãos por planta.

3.2.4.3. Peso de grão planta⁻¹

Por cada planta foram contabilizados o número de grãos e o seu peso (g), e calculado o peso de grão por planta.

3.2.4.4. Peso do hectolitro (PH)

Para a determinação do peso do hectolitro dos grãos de trigo, foi utilizada uma balança analítica (Mettler Toledo, AG204, EUA). Por cada planta, foi medido em proveta o volume (mL) dos grãos obtidos, sendo depois essa amostra pesada (g). O resultado final foi obtido com base na média das 9 plantas e expresso em kg hL⁻¹.

3.2.4.5. Peso de mil grãos (PMG)

Para cada genótipo e tratamento realizou-se a contagem e pesagem dos grãos obtidos por planta, sendo o valor do peso extrapolado para mil grãos. O resultado final foi obtido com base na média das 9 plantas e expresso em g.

3.3. Análise estatística

Foi usado o Software estatístico PAST (versão 3.22, 2018) para avaliação dos resultados. Para todos os resultados foi realizada a análise de variância (*ANOVA*) e o estudo comparativo das médias (teste Tukey) para um grau de confiança de 95% ($p \leq 0.05$).

4. Resultados e discussão

4.1. Efeito do alagamento no pH_{Ca}, CE e elementos minerais do solo

Não ocorreram quaisquer diferenças significativas no pH do solo entre os genótipos tanto no início da imposição do stresse como no final (vasos controlo e vasos alagados). No fim do tratamento o pH do solo dos vasos controlo (T14 C) manteve-se inalterado quando comparado com os mesmos vasos no início do stresse (T0). Os menores valores foram registados nos vasos alagados (T14 A), não diferindo significativamente dos T14 C (Tabela 4.1). Os valores de pH situaram-se entre 6,5 e 6,7 o que segundo Hazelton e Murphy (2007) é adequado ao crescimento de trigo (pH 5,5 a 7,0).

Tabela 4.1 – Efeito de 14 dias de alagamento no pH_{Ca} e na condutividade elétrica (CE) do solo utilizado no cultivo de 15 genótipos de trigo mole. T0: início do tratamento; T14 C: Vasos não alagados no 14º dia do tratamento; T14 A: Vasos alagados no 14º do tratamento. Valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo T em cada parâmetro (a, b) ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, p ≤ 0.05).

	pH _{Ca}			CE (mS cm ⁻¹)		
	T0	T14 C	T 14 A	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	6,64 ^{ar}	6,66 ^{ar}	6,55 ^{ar}	397.67 ^{ar}	186.60 ^{abs}	152.87 ^{as}
MC	6,66 ^{ar}	6,67 ^{ar}	6,48 ^{ar}	410.17 ^{ar}	224.20 ^{abs}	147.10 ^{as}
Rest.	6,65 ^{ar}	6,67 ^{ar}	6,55 ^{ar}	379.83 ^{ar}	155.13 ^{bs}	146.83 ^{as}
Ch.	6,68 ^{ar}	6,64 ^{ar}	6,55 ^{ar}	398.33 ^{ar}	170.93 ^{bs}	166.63 ^{as}
Nab.	6,69 ^{ar}	6,68 ^{ar}	6,58 ^{ar}	339.48 ^{ar}	173.77 ^{bs}	146.73 ^{as}
Arp.	6,69 ^{ar}	6,65 ^{ar}	6,55 ^{ar}	334.93 ^{ar}	170.97 ^{bs}	126.40 ^{as}
Sois.	6,73 ^{ar}	6,65 ^{ar}	6,55 ^{ar}	398.83 ^{ar}	129.07 ^{bs}	127.47 ^{as}
Or.	6,64 ^{ar}	6,65 ^{ar}	6,53 ^{ar}	394.68 ^{ar}	166.03 ^{bs}	122.80 ^{as}
Sol.	6,67 ^{ar}	6,67 ^{ar}	6,57 ^{ar}	365.17 ^{ar}	157.53 ^{bs}	127.80 ^{as}
Sunv.	6,71 ^{ar}	6,69 ^{ar}	6,57 ^{ar}	411.00 ^{ar}	178.87 ^{bs}	131.97 ^{as}
BT-S	6,72 ^{ar}	6,64 ^{ar}	6,56 ^{ar}	352.00 ^{ar}	155.93 ^{bs}	149.10 ^{as}
Exc.	6,66 ^{ar}	6,68 ^{ar}	6,56 ^{ar}	429.50 ^{ar}	291.73 ^{as}	144.67 ^{as}
G/...	6,67 ^{ar}	6,64 ^{ar}	6,57 ^{ar}	403.83 ^{ar}	158.33 ^{bs}	141.47 ^{as}
D/G//S	6,69 ^{ar}	6,65 ^{ar}	6,52 ^{ar}	406.50 ^{ar}	214.13 ^{abs}	139.83 ^{as}
K/P//M/D	6,71 ^{ar}	6,66 ^{ar}	6,62 ^{ar}	415.83 ^{ar}	169.93 ^{bs}	145.33 ^{as}

No início (T0) e no final do stresse para os vasos alagados (T14 A), a condutividade elétrica (CE) dos solos dos genótipos em estudo não foi afetada. Os vasos controlo (T14 C) apresentaram alguma variação entre genótipos, sendo o valor mais alto registado em Exc. No final do período de alagamento, tanto os vasos em controlo (T14 C) como os alagados (T14 A) mostravam um decréscimo acentuado da CE comparativamente com o início do tratamento (T0) refletindo a utilização pelas plantas dos nutrientes existentes no solo. Nos vasos T14 C, esta redução variou entre 32 (Exc.) e 68 % (Sois.) e nos T14 A entre 57 % (Nabão) e 69 % (Orion). Não havendo diferença significativa entre os vasos T14 C e T14 A, é de salientar que os menores valores de CE foram sempre encontrados nos solos alagados com uma redução média de 19%

comparativamente aos não alagados (Tabela 4.1) provavelmente devido a lixiviação. Apesar de a CE não influenciar diretamente o crescimento das plantas, pode ser usada como um indicador da disponibilidade de nutrientes e de fertilidade do solo (Carmo et al., 2016).

Tabela 4.2 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ca, K, Fe, Al, Si, Ti, Mn, Cu, Zn, Zr, Sr, Rb e Nb no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia do tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º do tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=90; T14: n=45). Letras diferentes (a, b) correspondem a diferenças significativas para cada elemento nos diferentes tratamentos. (ANOVA de fator único, $p \leq 0.05$).

	T0	T14 C	T14 A
Ca (%)	0,98 ^a	0,90 ^a	0,68 ^b
K (%)	1,23 ^a	1,23 ^a	1,00 ^b
Fe (%)	1,43 ^a	1,42 ^a	1,44 ^a
Al (%)	1,22 ^a	0,84 ^b	0,80 ^b
Si (%)	13,29 ^a	10,28 ^b	10,18 ^b
Ti (%)	0,42 ^a	0,42 ^a	0,43 ^a
Mn (ppm)	181,33 ^b	190,56 ^b	208,21 ^a
Cu (ppm)	53,31 ^a	57,37 ^a	53,05 ^b
Zn (ppm)	28,15 ^a	27,80 ^a	25,95 ^a
Zr (ppm)	145,64 ^a	144,21 ^a	145,16 ^a
Sr (ppm)	38,35 ^a	38,75 ^a	38,62 ^a
Rb (ppm)	52,18 ^a	51,83 ^a	50,21 ^a
Nb (ppm)	11,76 ^a	12,26 ^a	12,02 ^a

Nas amostras de solo foram detetados Silício (Si), Ferro (Fe), Potássio (K), Alumínio (Al), Cálcio (Ca), Titânio (Ti), Manganês (Mn), Zircónio (Zr), Rubídio (Rb), Estrôncio (Sr), Nióbio (Nb), Cobre (Cu) e Zinco (Zn). A análise estatística mostrou que não há diferenças significativas entre as amostras de solo de cada genótipo ao longo do ensaio (T0, T14 C e T14 A), para todos os elementos detetados (Anexo 2), pelo que se optou por analisar em conjunto as amostras dos vários genótipos.

No início do tratamento, o Si era o elemento mais abundante, seguido do Fe, K, Al, Ca, Ti, Mn, Zr, Rb, Sr, Nb, Cu, Zn, mantendo-se este padrão nos vasos T14 C e T14 A (Tabela 4.2). Após 14 dias de tratamento, os vasos mantidos em conforto hídrico (T14 C) apresentavam teores semelhantes aos registados no início do tratamento (T0) para todos os elementos, exceto Al e Si onde se registou um decréscimo de 32 e 22%, respetivamente. Com o alagamento (T14 A) os valores de Fe, Ti, Zn, Zr, Sr, Rb e Nb mantiveram-se inalterados, tendo-se verificado uma redução da concentração de Ca (25%), K (19%) e Cu (8%), comparativamente com os T14 C. O teor de Mn manteve-se inalterado no solo T14 C, observando-se no solo alagado (T14 A) um aumento de 15% quando comparado com T0 (Tabela 4.2).

Apesar da lixiviação de alguns nutrientes, a manutenção do pH perto da neutralidade garante as condições ideais para a disponibilidade total de nutrientes, e a não toxicidade por Mn e Fe (McCauley et al. 2017). Herzog et al. (2016) referem que a toxicidade por estes elementos acontece maioritariamente em solos ácidos.

4.2. Efeito do alagamento nas raízes adventícias

Durante todo o estudo as plantas mantidas em controlo não desenvolveram raízes adventícias, pelo que a análise dos resultados inclui somente as plantas sujeitas a alagamento.

No final do período de alagamento, Exc. destacava-se dos restantes genótipos pelo maior número de raízes adventícias e Arp. pelo menor (7,6 e 0,4, respetivamente) (Tabela 4.3).

As primeiras raízes adventícias surgiram aos 4 dias de alagamento (T4 A) em todos os genótipos, com exceção de G/..., D/G//S e K/P//M/D que desenvolveram esta adaptação morfológica logo aos T2 A. Vários autores referem que a tolerância ao alagamento parece estar intimamente ligada à capacidade das plantas formarem raízes adventícias (Calvo-Polanco et al., 2012; Sauter, 2013; Ayi et al., 2016; Zhang et al., 2017). Estas raízes facilitam o transporte dos gases e a absorção de nutrientes e de água durante o alagamento (Sauter, 2013; Steffens e Rasmussen, 2016), apresentando maior capacidade de crescimento no período pós-alagamento do que o sistema radicular seminal (Fagerstedt et al., 2013). Como tal, o sistema radicular adventício contribui fortemente para a absorção de nutrientes (nomeadamente P e K) durante o tratamento (hipóxia) e na recuperação (Kuiper et al., 1994; Wiengweera e Greenway, 2004).

Tabela 4.3 – Número de raízes adventícias em genótipos de *T. aestivum* L. sujeitos a alagamento total. Avaliação em diferentes períodos do tratamento (T2 A - 2 dias de tratamento; T4 A – 4 dias de tratamento; T7 A – 7 dias de tratamento; T14 A – 14 dias de tratamento). Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos em cada período de tratamento (a, b, c, d, e, f), e entre períodos de tratamento para cada genótipo (r, s, t). As letras (a) e (r) correspondem aos valores mais elevados. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Nº de raízes adventícias								
	T2 A		T4 A		T7 A		T14 A	
Alent.	0,0	at	1.0	abt	2.7	abs	4.4	br
MC	0,0	at	0.2	bst	1.3	abcde s	4.3	br
Rest.	0,0	as	0.2	bst	0.9	cde s	2.2	cde r
Ch.	0,0	at	0.7	bst	1.3	abcde rs	2.4	cde r
Nab.	0,0	at	0.4	bst	1.3	abcde rs	1.9	def r
Arp.	0,0	ar	0.1	br	0.3	ers	0.4	fr
Sois.	0,0	as	0.2	bs	0.6	de rs	1.8	def r
Or.	0,0	as	0.1	bs	0.4	es	2.9	bcd e r
Sol.	0,0	as	0.3	brs	1.0	cde rs	1.4	ef r
Sunv.	0,0	at	1.1	abst	1.8	abcde s	3.3	bcd r
BT-S	0,0	at	1.7	abst	2.3	abc s	3.6	bc r
Exc.	0,0	at	2.6	as	3.4	as	7.6	ar
G/...	0.2	as	0.3	bs	0.4	es	2.3	cde r
D/G//S	0.7	as	1.4	abs	1.8	abcde s	3.6	bc r
K/P//M/D	0.7	at	1.6	abst	2.1	abcd rs	3.1	bcd r

4.3. Efeito do alagamento nos filhos

Procedeu-se ao alagamento de forma a que este tivesse início (T0) no mesmo estágio de desenvolvimento para todos os genótipos, escolhendo vasos com um número semelhante de filhos para os dois tratamentos (não alagadas, C; alagadas, A) (Figura 4.1).

Durante o período do tratamento, Alent., Ch., Nab., Sunv., BT-S, Exc. e K/P//M/D continuaram a emitir filhos não se observando, no fim do tratamento (T14) diferenças entre as plantas alagadas (A) e não alagadas (C) em nenhum dos 15 genótipos em estudo (Figura 4.1).

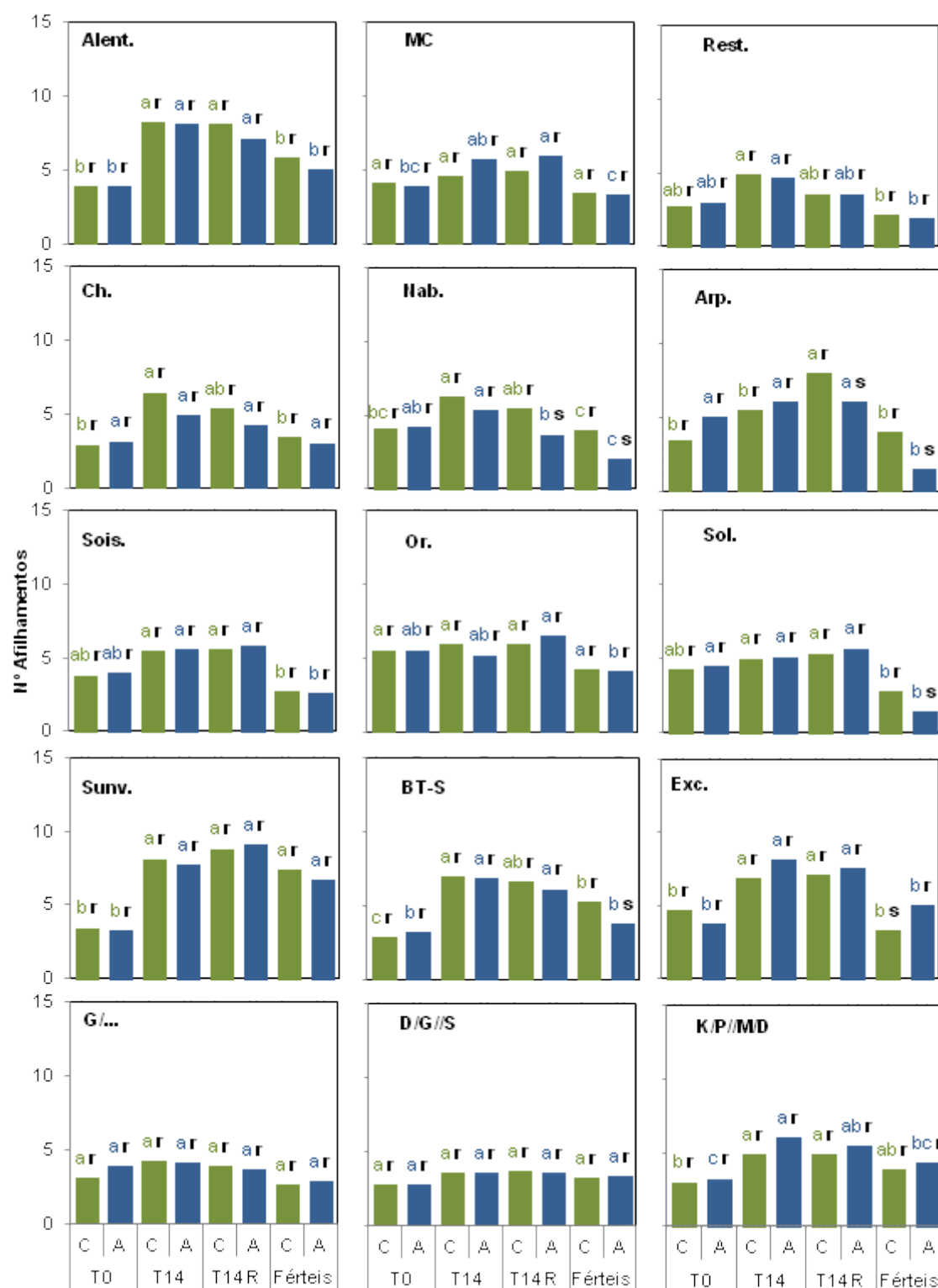


Figura 4.1 - Efeito do alagamento no número de filhos nos diferentes genótipos de *T. aestivum* L. em estudo em plantas não alagadas (C) ou alagadas (A). Avaliação em diferentes tempos de tratamento (T0 - início do tratamento; T7 - 7º dia do tratamento; T14 - 14º dia do tratamento; T14 R - 14º dia após fim do tratamento; Férteis - no fim do ciclo produtivo). Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas, (a, b) - comparação para mesmo tratamento nos diferentes tempos; (r, s) - diferenças significativas entre tratamentos no mesmo tempo. (a) e (r) correspondem aos valores mais altos. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

No fim do período de recuperação (T14 R) observaram-se decréscimos no número de filhos nas plantas alagadas comparativamente às não alagadas em Nab. (33 %) e Arp. (25 %), não havendo alterações nos restantes genótipos (Figura 4.1).

Comparando o número de filhos férteis entre plantas alagadas e não alagadas, (*i.e.*, que produziram espiga com grão no fim do ciclo produtivo, o único aumento ocorreu em Exc. (50 %). Vários autores referem o decréscimo do número de filhos em plantas de trigo sensíveis ao alagamento (Collaku e Harrison, 2002; Malik et al., 2002; Herzog et al., 2016; Pampana et al., 2016; Sharma et al., 2018), o que está de acordo com o observado em Nab., Arp., Sol. e BT-S (decréscimos de 50, 64, 48 e 28 %, respetivamente). O número de filhos férteis manteve-se inalterado nos restantes genótipos (Figura 4.1).

No final do ciclo, o número de filhos férteis foi inferior ao número máximo produzido pelas plantas tanto alagadas (9 a 76 %) como não alagadas (6 a 57 %) exceto em G/..., D/G//S e K/P//M/D, que se destacam também dos restantes genótipos pelo número constante de filhos durante todo o ciclo. Esta característica reveste-se de grande valor do ponto de vista do melhoramento, uma vez que a perda de filhos férteis contribui fortemente para a redução do rendimento (Almeida et al., 2000). Relativamente ao valor máximo do número de filhos, Exc. foi o único genótipo em que a redução dos filhos férteis nas plantas não alagadas foi maior (52 %) do que nas plantas alagadas (38 %)(Figura 4.1).

4.4. Efeito do alagamento nos pigmentos fotossintéticos

No início do tratamento (T0) os valores de SPAD encontravam-se entre 43,8 (Alent.) e 52,7 (BT-S). Durante a imposição do stresse (T7 e T14) e respetiva recuperação (T14 R) as plantas mantidas em controlo (C) não diferiram das T0 (Figura 4.2)

Logo em T7, todas as plantas alagadas apresentaram um decréscimo significativo do teor relativo de clorofila comparativamente com T0, exceto Rest., Ch., Nab., G/..., D/G//S e K/P//M/D, cujos valores de SPAD não variaram. No entanto, no fim do período de alagamento (T14 A) só G/... e K/P//M/D permaneceram inalterados (Figura 4.2).

No último dia do stresse (T14), comparando os valores de SPAD nas plantas alagadas e não alagadas, observou-se uma redução de 10-20 % (D/G//S, Sois., Or. e Exc.), de 21-30 % (Rest., Arp., Sol., Ch., BT-S, MC e Sunv.) e 31-40 % (Nab. e Alent). No final do período de recuperação (T14 R), três destas (D/G//S, MC e Ch) mostraram melhor desempenho atingindo valores semelhantes nas plantas controlo e previamente alagadas (Figura 4.2).

Os teores absolutos de clorofila e de carotenóides foram avaliados no final do período de alagamento, nas plantas C e A. Os valores de clorofila obtidos seguiram um padrão semelhante ao registado com o SPAD (exceto em K/P//M/D), apontando para uma boa correlação entre os teores relativo e absoluto de clorofilas das folhas, como referido por vários autores em diferentes culturas (Malik et al., 2001; Malik et al., 2002; Collaku e Harrison, 2002; Jesus e Marengo, 2008; Ling et al., 2011).

O alagamento provocou decréscimos no teor absoluto da clorofila, que variaram entre 17% (D/G//S) e 53% (Figura 4.2). Estes resultados estão de acordo com o encontrado por vários autores (Anjum et al., 2011; Herzog et al., 2016; Manik et al., 2019), sendo a redução do conteúdo em clorofilas considerado um indicador de stresse oxidativo (Anjum et al., 2011).

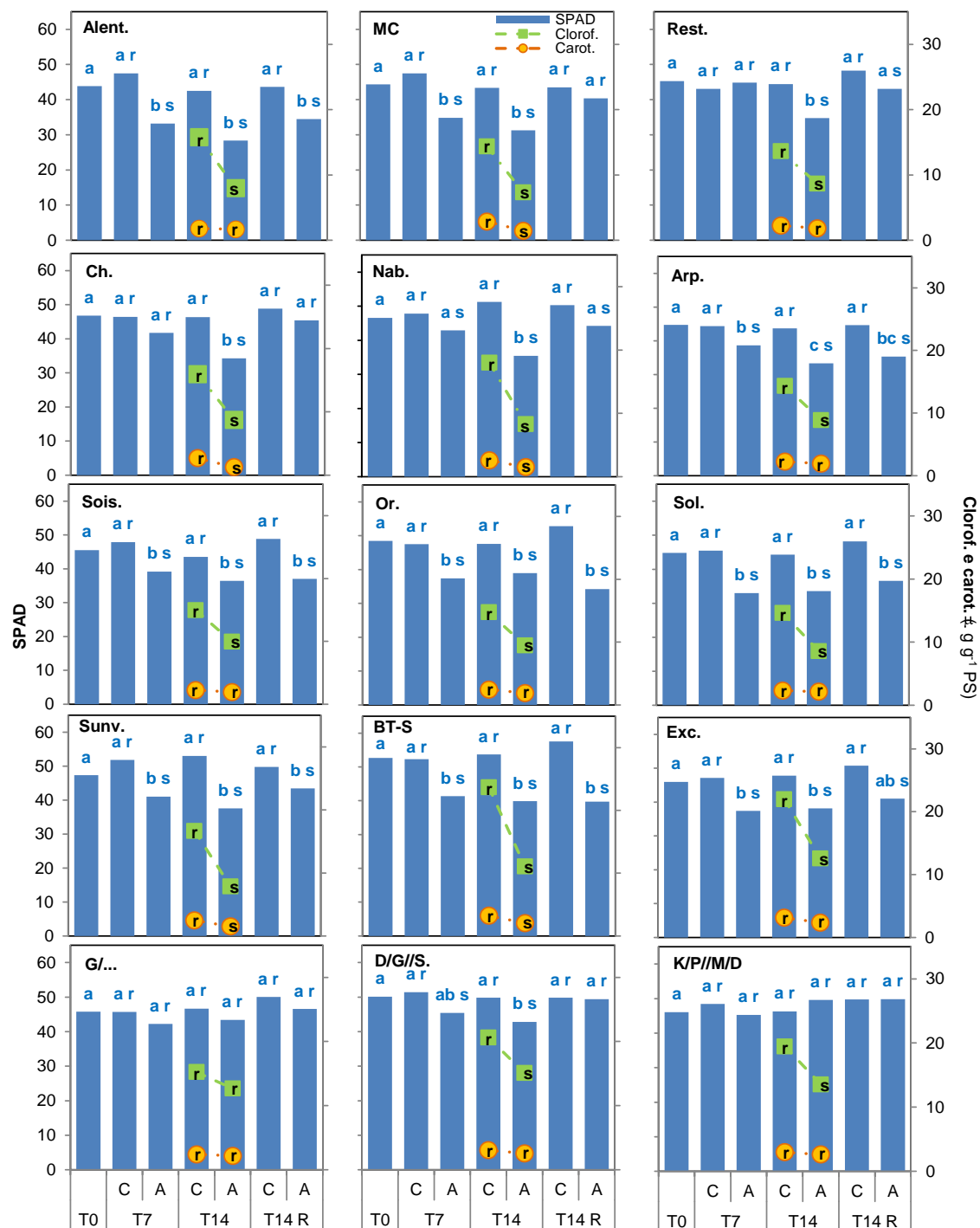


Figura 4.2 – Efeito do alagamento nos pigmentos fotossintéticos nos diferentes genótipos de *T. aestivum* L. em estudo em plantas não alagadas (C) ou sujeitas a alagamento (A). Avaliação em diferentes tempos de tratamento (T0 - início do tratamento; T7 - plantas no 7º dia do tratamento; T14 - plantas no 14º dia do tratamento; T14 R - plantas no 14º dia após fim do tratamento). Os valores apresentados correspondem a médias (T0: n=18, T14: n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas, (a, b) - comparação dos valores de SPAD para cada genótipo nos diferentes tempos do tratamento; (r, s) - indicam diferenças significativas para SPAD, clorofilas ou carotenóides totais, para cada genótipo e tratamento. (a) e (r) correspondem aos valores mais altos. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Os carotenóides permaneceram estáveis com o alagamento exceto em Ch., MC, Nab., Sunv. e BT-S onde se registaram reduções (55, 49, 42, 39 e 36 %, respetivamente). Vários estudos em trigo referem que o alagamento induziu um decréscimo das concentrações destes pigmentos fotossintéticos em algumas variedades (Collaku et al, 2002; Ploschuk et al., 2018; Alizadeh-Vaskasi et al., 2018). No final do stresse, BT-S, Exc., D/G//S e K/P//M/D detinham os maiores conteúdos de carotenóides, tanto nas plantas alagadas como nas não alagadas, o que sugere uma boa capacidade de mitigação dos efeitos negativos das ROS, cuja produção é estimulada durante o alagamento (Ashraf, 2012).

4.5. Efeito do alagamento nas trocas gasosas foliares

O desempenho fotossintético face a stresses ambientais é um dos parâmetros que mais influencia o crescimento e a produtividade de uma cultura.

No final dos 14 dias de alagamento, observou-se uma tendência para o decréscimo (16 a 48%) da Pn na maioria dos genótipos testados. A redução mais acentuada ocorreu em Sol. não se registando quaisquer diferenças entre plantas C e A em Rest., BT-S, G/... e D/G//S (Figura 4.3). Os maiores valores de Pn foram registados em Exc. quando em condições controlo, e em G/... no fim do alagamento (Figura 4.3).

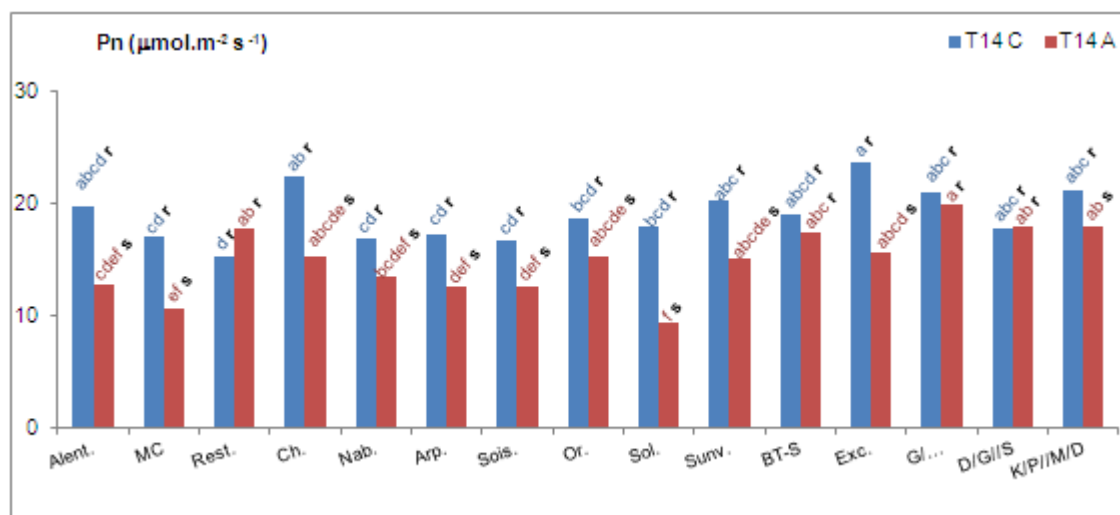


Figura 4.3 – Impacto de 14 dias de alagamento total na taxa de fotossíntese (Pn) em 15 genótipos de *T. aestivum* L. T14 C - plantas não alagadas, T14 A – plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c, d, e, f), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Após 14 dias de alagamento, observaram-se fortes decréscimos da gs em ca. de metade dos genótipos (Alent., MC, Sois., Sol., Sunv., Exc., G/... e K/P//M/D) que variaram entre 37 e 76 % (Figura 4.4). Alterações das taxas fotossintéticas podem ser resultado de variações da condutância estomática foliar (Scotti-Campos et al., 2015).

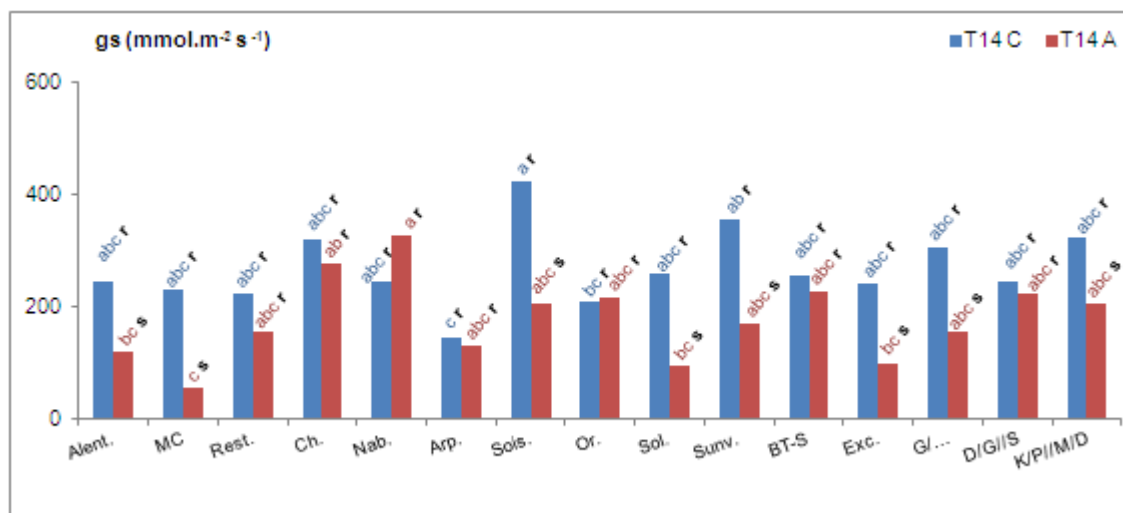


Figura 4.4 – Impacto de 14 dias de alagamento total na condutância estomática (gs) em 15 genótipos de *T. aestivum* L. T14 C - plantas não alagadas, T14 A - plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Para avaliar o efeito do alagamento na Pn, os valores de Ci devem ser fornecidos para ajudar na interpretação (Herzog et al., 2016). No fim dos 14 dias de tratamento, as plantas não alagadas (T14 C) de todos os genótipos apresentavam valores idênticos de Ci, que variaram entre 245 e 373 ppm (Figura 4.5). No entanto, nas plantas sujeitas a alagamento (T14 A) isso já não se verificou, observando-se reduções em Alent., MC, Sol., Sunv., BT-S e Exc. O maior decréscimo de Ci (68 %) foi observado em MC, provavelmente devido ao maior fecho estomático (redução de 76 % na gs) refletindo-se numa menor Pn (38 %).

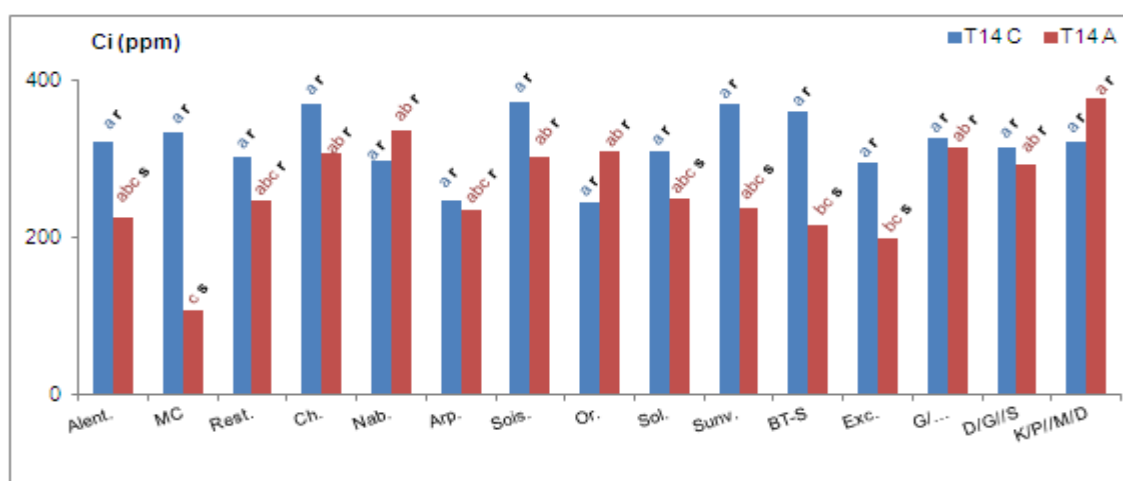


Figura 4.5 – Impacto de 14 dias de alagamento total na concentração interna de CO₂ (Ci) em 15 genótipos de *T. aestivum* L. T14 C - plantas não alagadas, T14 A - plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

De uma forma geral, o alagamento reduziu a taxa de transpiração (E), mas os decréscimos só foram significativos em Alent., MC, Ch., Sois., Sol., Sunv., Exc.e K/P//M/D (Figura 4.6). A maior redução foi observada em MC (66 %), como resultado do fecho estomático.

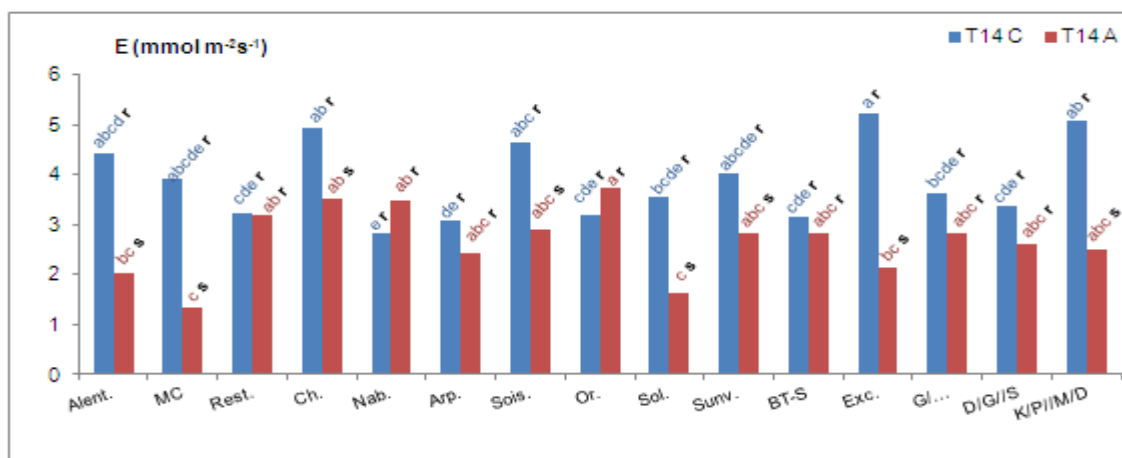


Figura 4.6 – Impacto de 14 dias de alagamento total na transpiração (E) em 15 genótipos de *T. aestivum* L. T14 C - plantas não alagadas, T14 A - plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c, d, e), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Na eficiência instantânea do uso da água (iWUE) registaram-se aumentos em MC (86 %), K/P//M/D (77 %), Exc. (50 %), Alent. (42 %) e G/... (26 %) (Figura 4.7) que resultaram de uma redução mais acentuada nos valores de E do que na Pn. A iWUE manteve-se inalterada em Rest., Ch., Arp., Sois., Sol., Sunv., BT-S e D/G//S e observaram-se decréscimos em Nab. e Or. como resultado de menores taxas de Pn e valores de E estáveis.

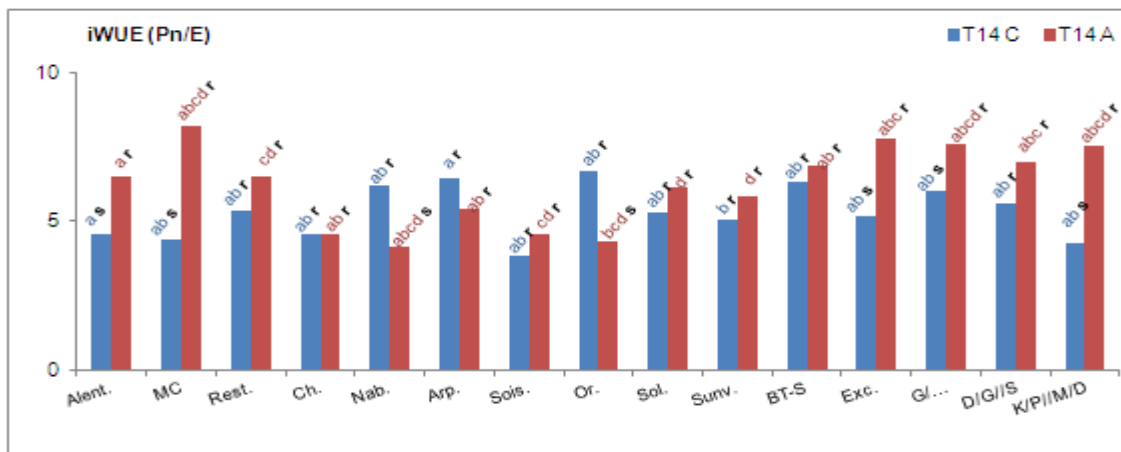


Figura 4.7 – Impacto de 14 dias de alagamento total na eficiência instantânea do uso da água (iWUE) em 15 genótipos de *T. aestivum* L. T14 C - plantas não alagadas, T14 A – plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c, d), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

Entre os genótipos estudados observámos diferentes respostas a 14 dias de alagamento. Herzog et al. (2016), num estudo com 23 variedades de trigo, refere uma grande variabilidade nas

respostas ao alagamento (7 a 34 dias) com reduções da fotossíntese entre 7 e 85 %. No presente estudo, Rest. e D/G//S não sofreram alterações nos valores de Pn, gs, Ci e E, o que está de acordo com o relatado por vários autores em plantas de trigo sujeitas ao mesmo período de alagamento (de San Celedonio et al., 2017; Ploschuk et al., 2018). Contudo, em condições semelhantes, também são reportadas fortes reduções na Pn e gs (Malik et al., 2001) o que suporta os resultados encontrados em Alent., MC., Sois., Sol., Sunv. e Exc.

Vários autores referem que a redução da condutância hidráulica solo-folha provocada pelo alagamento (Tan et al., 2018) pode induzir um deficit hídrico, uma vez que podem ocorrer estrangulamentos na absorção de água pelas raízes. Em plantas sensíveis esta 'seca fisiológica' pode conduzir ao decréscimo da gs (fecho estomático para conservar a água) (Bramley e Tyerman, 2010), assim como à redução de CO₂ intercelular (Ci) e da Pn (Malik et al., 2001; Striker et al., 2005; Ploschuk et al., 2018).

Vários estudos com trigo (Malik et al. 2001; Wu et al. 2014; Herzog et al., 2016) concluíram que os valores de Ci permaneceram inalterados ou aumentaram com o alagamento, não sendo por isso o fecho estomático o fator limitante para os decréscimos de Pn observados. Isto poderá ser o caso dos genótipos Sois. e K/P//M/D.

Além das limitações estomáticas, a redução da Pn pode dever-se a danos no aparelho fotossintético provocados por ROS (Nishiyama et al., 2006; Ashraf, 2012), ou por degradação da clorofila devido à deficiente absorção de N pelas raízes, levando à clorose foliar e senescência acelerada (Hörtensteiner, 2006; Araki et al., 2012; Herzog et al., 2016). A acumulação de açúcares e/ou a fitotoxicidade por Fe e Mn pode também reduzir a Pn (Malik et al., 2001, 2002; Herzog et al., 2016).

4.6. Efeito do alagamento nos açúcares solúveis foliares

O alagamento induziu uma acumulação acentuada de açúcares solúveis nas folhas em Alent., MC, Nab., Sunv., BT-S., Exc., G/..., D/G//S e K/P//M/D. Apesar de MC apresentar o valor mais elevado (129,1 mg g⁻¹ PS) nas plantas alagadas, o maior aumento (536 %) foi encontrado em Sunv. comparativamente com as plantas controlo (Figura 4.8). Exc. apresentou os menores valores nas plantas alagadas e nas não alagadas.

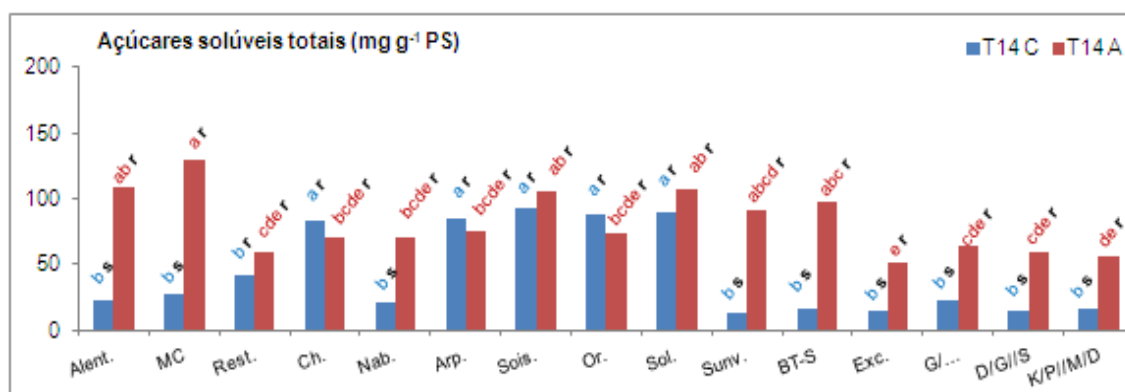


Figura 4.8 – Impacto de 14 dias de alagamento total no teor de açúcares totais em 15 genótipos de *T. aestivum* L.. T14 C - plantas não alagadas, T14 A – plantas sujeitas a alagamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo tratamento (a, b, c, d, e), ou entre tratamentos no mesmo genótipo (r, s), sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, p ≤0.05).

Vários autores relatam a acumulação de açúcares nos tecidos foliares de trigo sujeitos a alagamento (Huang e Jonhson, 1995; Malik et al., 2002; Ahmed et al., 2013; Herzog et al., 2016). Esta acumulação pode resultar da rápida inibição do crescimento da planta no início do alagamento, levando a um menor consumo dos açúcares produzidos pela fotoassimilação. Nesta situação, apesar de também ocorrer uma redução da Pn, a produção de açúcares nas folhas excede o seu consumo (Setter et al., 1987; Malik et al., 2001, 2002; Herzog et al., 2016). A hipóxia radicular leva à cessação de crescimento tanto do sistema radicular como da parte aérea conduzindo a uma menor exigência de substrato, a que acresce a redução da capacidade de transporte do floema pelas raízes (Malik et al., 2002, Herzog et al., 2016).

No caso de Alent., MC, Sunv. e BT-S, a maior acumulação dos teores de açúcares nas plantas alagadas deveu-se ao aumento da sacarose, da glucose e da frutose. As subidas dos teores de glucose e frutose foram as responsáveis pelo aumento dos açúcares solúveis totais em Nab., Exc., G/..., D/G//S e K/P//M/D (Tabela 4.4). O aumento na disponibilidade de açúcares redutores nas plantas pode resultar, entre outros, de uma maior atividade da sacarose sintase, como referido por Barickman et al. (2019) para plantas de pepino submetidas a condições de alagamento.

Tabela 4.4 – Efeito de 14 dias de alagamento nos açúcares solúveis foliares. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo açúcar (a, b, c, d, e, f) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo açúcar, sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

	Açúcares solúveis (mg g ⁻¹ PS)					
	Sacarose		Glucose		Frutose	
	T14 C	T14 A	T14 C	T14 A	T14 C	T14 A
Alent	8.2 ^{bs}	42.9 ^{ab r}	9.2 ^{ab s}	35.1 ^{abc r}	4.0 ^{cd s}	18.6 ^{cd r}
MC	3.2 ^{bs}	54.1 ^{a r}	16.9 ^{ab s}	38.7 ^{ab r}	5.4 ^{abcd s}	20.9 ^{ab r}
Rest.	16.4 ^{br}	17.0 ^{cd r}	14.6 ^{ab r}	17.2 ^{er}	9.4 ^{abcd s}	18.1 ^{cde r}
Ch.	54.4 ^{ar}	33.3 ^{bcd s}	13.3 ^{ab r}	17.8 ^{de r}	9.6 ^{abcd r}	12.9 ^{def r}
Nab.	11.6 ^{br}	20.0 ^{cd r}	5.6 ^{bs}	24.7 ^{abcde r}	5.0 ^{bcd s}	19.1 ^{cd r}
Arp.	45.4 ^{ar}	35.6 ^{abc r}	14.2 ^{ab r}	17.1 ^{er}	10.7 ^{abc r}	14.4 ^{cdef r}
Sois.	61.0 ^{ar}	30.0 ^{bcd s}	13.6 ^{ab s}	39.7 ^{ar}	10.9 ^{abc s}	27.2 ^{ab r}
Or.	46.8 ^{ar}	35.1 ^{abcd r}	22.3 ^{ar}	18.1 ^{de r}	12.9 ^{ar}	10.0 ^{fr}
Sol.	46.7 ^{ar}	33.9 ^{bcd}	22.9 ^{ar}	33.7 ^{abc}	12.5 ^{ab s}	28.2 ^{ar}
Sunv.	5.8 ^{bs}	35.2 ^{abc r}	3.9 ^{bs}	24.1 ^{bcde r}	2.2 ^{ds}	19.7 ^{bcd r}
BT-S	9.6 ^{bs}	35.8 ^{abc r}	3.7 ^{bs}	32.8 ^{abcd r}	2.5 ^{ds}	21.0 ^{ab r}
Exc.	5.0 ^{br}	15.2 ^{dr}	6.3 ^{bs}	17.7 ^{er}	2.5 ^{ds}	10.8 ^{ef r}
G/...	9.6 ^{br}	21.8 ^{cd r}	6.6 ^{bs}	22.4 ^{cde r}	3.9 ^{cd}	12.9 ^{def r}
D/G//S	8.1 ^{br}	20.2 ^{cd r}	3.0 ^{bs}	24.5 ^{bcde r}	2.1 ^{ds}	10.1 ^{fr}
K/P//M/D	8.8 ^{br}	20.1 ^{cd r}	5.1 ^{bs}	18.7 ^{de r}	2.0 ^{ds}	13.5 ^{cdef r}

4.7. Efeito do alagamento na permeabilidade membranar

A avaliação da tolerância dos genótipos ao alagamento foi feita recorrendo ao teste de fuga de eletrólitos, por meio do índice de dano (I%), considerado um indicador da integridade membranar em diferentes culturas (Matos et al., 2002; Campos et al., 2003; Scotti-Campos et al., 2015; Castanheira et al., 2017). A capacidade de manter a estrutura, a composição e a funcionalidade das membranas permite preservar o metabolismo celular em condições de stresse, e está por isso subjacente a uma maior tolerância protoplasmática (Campos et al., 2011). Segundo os mesmos autores, um acentuado aumento de I% pode refletir danos membranares irreversíveis resultantes de processos oxidativos e fenómenos de lipoperoxidação. Estes processos dão início à descompartimentação celular e à senescência dos tecidos.

Os valores de I% apresentaram aumentos nas plantas sujeitas a 14 dias de alagamento comparativamente com as não alagadas (Figura 4.9). Estes aumentos foram significativos em Alent., MC., Ch. e Nab, mantendo-se no entanto em valores considerados baixos (máx. 12,8%), o que denota uma boa capacidade de manutenção da integridade membranar. Estes resultados eram expectáveis pelo facto de os genótipos em estudo terem sido selecionados como os menos afetados pelo alagamento parcial em ensaios anteriores.

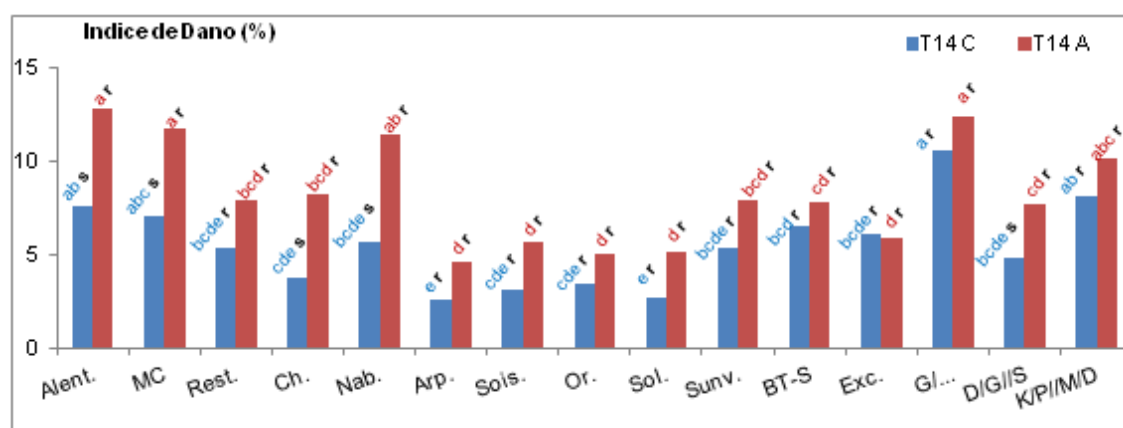


Figura 4.9 – Índice de dano (%) ao fim de 14 dias de alagamento total em 15 genótipos de *T. aestivum* L.. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A - Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo açúcar (a, b, c, d, e) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo açúcar, sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

4.8. Efeito do alagamento nos lípidos membranares

Os lípidos são constituintes essenciais das células vegetais pelo seu papel na estrutura das membranas e como fonte de energia para o metabolismo celular (Wang, 2004; Xiao e Chye, 2011). A preservação dos lípidos membranares contribui fortemente para manter a funcionalidade das membranas em condições ambientais limitantes (Ramalho et al., 1998; Blokhina et al., 2003; Campos et al., 2003). A anóxia pode induzir alterações na composição lipídica das membranas (Xie et al. 2015), embora os efeitos do alagamento estejam pouco estudados.

Os teores mais elevados de ácidos gordos totais (AGT) foram observados no genótipo G/... (25,6 mg g⁻¹ PS) em condições controlo (plantas não alagadas), e em D/G//S (25,3 mg g⁻¹ PS)

no fim do alagamento. Nas plantas controlo os menores teores foram observados em MC (11,7 mg g⁻¹ PS), e em Arp. (5,4 mg g⁻¹ PS) nas plantas alagadas (Figura 4.10).

O alagamento promoveu a redução do teor de AGT nalguns genótipos (Figura 4.10), o que reflete a diminuição do teor de lípidos nos mesmos. O maior decréscimo foi observado em Nab. (64%) e o menor em K/P//M/D (27%). Durante o alagamento, a mudança da respiração aeróbia para anaérobica conduz a uma crise energética (Gibbs e Greenway, 2003; Ploschuk et al., 2018), limitando a síntese *de novo* de lípidos (Blokhina et al., 2003). Em condições de anóxia, plantas tolerantes de *Oryza* e *Echinochloa* apresentaram a capacidade de sintetizar várias categorias de lípidos (Generosova e Vartapetian, 2005). No presente estudo observou-se uma manutenção do teor de AGT em MC, Rest., Or., Sunv. e D/G//S, que sugere uma não afetação/preservação dos lípidos membranares nestes genótipos.

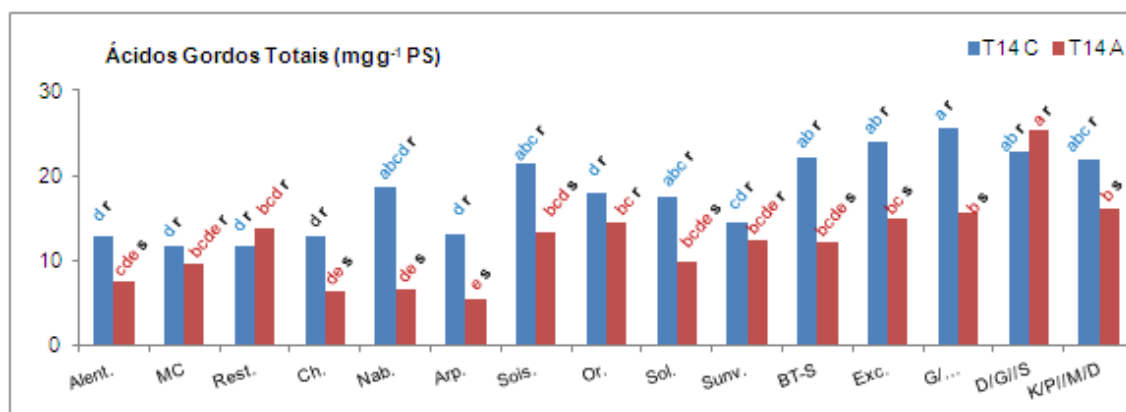


Figura 4.10 – Ácidos Gordos Totais (mg g⁻¹ PS) em folhas de plantas de 15 genótipos de *T. aestivum* L. sujeitas a 14 dias de alagamento total. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento. T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo açúcar (a, b, c, d, e) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo açúcar, sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, p ≤ 0.05).

Os genótipos podem também apresentar alterações na composição em AG dos seus lípidos. O perfil dos ácidos gordos (AG) dos lípidos foliares manteve-se semelhante nas plantas alagadas e não alagadas. O ácido linolénico (C18:3) foi o mais abundante, seguido do palmitico (C16:0), linoleico (C18:2), esteárico (C18:0), palmitoleico (C16:1) e oleico (C18:1) (Tabela 4.5).

Com o alagamento, relativamente aos AG insaturados, os valores de C18:3 sofreram uma redução em Alent., Ch., Nab. e Arp. (19, 29, 20, 27 %, respetivamente), aumento em MC (15 %) e BT-S (14 %) e permaneceram inalterados nos restantes genótipos. O C18:2 registou alterações em Sois., Sol. e Sunv. (incrementos de 40, 29 e 45 %, respetivamente). O C18:1 reduziu 30% em Arp. e aumentou 66 % em BT-S. O C16:1 registou decréscimos em Alent., MC, G/... e K/P//M/D (26, 28, 23 3 32 %, respetivamente) e aumentou em Sunv. (22%), mantendo-se inalterado nos restantes genótipos (Tabela 4.5).

Os AG saturados apresentaram também algumas alterações em resposta ao alagamento, sendo de registar aumentos importantes de C16:0 em Alent. (76%), Ch. (56 %) Nab. (62 %), Arp. (104%) e BT-S (64%), e do C18:0 em Nab. (193 %) e Arp. (87 %). Alguns autores referem que em plantas tolerantes à anóxia o metabolismo dos lípidos favorece a síntese de ácidos gordos saturados (Generosova e Vartapetian, 2005). O aumento do grau de saturação dos lípidos

membranares pode ser considerado como uma característica adaptativa, uma vez que a menor abundância de PUFA's reduz a susceptibilidade de fenómenos de degradação oxidativa.

Tabela 4.5 – Efeito de 14 dias de alagamento nos ácidos gordos (AG) foliares. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo açúcar (a, b, c, d, e) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo açúcar, sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

		Ácidos Gordos (% mol)					
		C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2	C18:3
Alent.	T14 C	16,0 ^{cd s}	4,0 ^{ab r}	3,1 ^{ab r}	1,3 ^{cd r}	9,0 ^{ab r}	66,6 ^{abc r}
	T14 A	28,2 ^{bc r}	3,0 ^{bc s}	3,9 ^{bc r}	1,4 ^{ab r}	9,9 ^{abc r}	53,7 ^{de s}
MC	T14 C	24,5 ^{ab r}	3,3 ^{b r}	3,9 ^{a r}	1,6 ^{abc r}	11,7 ^{a r}	54,9 ^{d s}
	T14 A	17,4 ^{ef s}	2,4 ^{c s}	2,9 ^{cd r}	1,7 ^{a r}	12,6 ^{a r}	63,0 ^{abcd r}
Rest.	T14 C	19,5 ^{abcd r}	3,4 ^{b r}	2,9 ^{abc r}	1,3 ^{cd r}	11,3 ^{a r}	61,5 ^{cd r}
	T14 A	21,9 ^{cde r}	4,1 ^{ab r}	2,3 ^{cd r}	1,0 ^{bc r}	10,4 ^{abc r}	60,4 ^{bcd r}
Ch.	T14 C	26,8 ^{a s}	3,7 ^{ab r}	3,9 ^{a r}	2,1 ^{a r}	8,7 ^{ab r}	54,8 ^{d r}
	T14 A	41,7 ^{a r}	3,4 ^{bc r}	5,3 ^{a r}	1,7 ^{a r}	9,2 ^{bc r}	38,8 ^{f s}
Nab.	T14 C	16,6 ^{bcd s}	4,2 ^{ab r}	1,1 ^{cd s}	1,0 ^{de r}	8,9 ^{ab r}	68,3 ^{abc r}
	T14 A	26,9 ^{bcd r}	3,7 ^{b r}	3,3 ^{cd r}	1,3 ^{abc r}	10,5 ^{abc r}	54,4 ^{cde s}
Arp.	T14 C	16,6 ^{bcd s}	3,1 ^{b r}	2,7 ^{abcd s}	1,5 ^{bc r}	9,6 ^{ab r}	66,4 ^{abc r}
	T14 A	33,8 ^{ab r}	3,0 ^{bc r}	5,1 ^{ab r}	1,0 ^{bc s}	8,6 ^{c r}	48,4 ^{ef s}
Sois.	T14 C	16,9 ^{bcd r}	3,8 ^{ab r}	1,5 ^{bcd r}	2,0 ^{a r}	9,2 ^{ab s}	66,6 ^{abc r}
	T14 A	17,3 ^{ef r}	3,7 ^{b r}	1,8 ^{d r}	1,7 ^{a r}	12,9 ^{a r}	62,6 ^{abcd r}
Or.	T14 C	19,0 ^{abcd r}	4,0 ^{ab r}	2,0 ^{bcd r}	1,9 ^{ab r}	9,7 ^{ab r}	63,4 ^{bc r}
	T14 A	18,6 ^{ef r}	3,6 ^{b r}	1,8 ^{d r}	1,6 ^{a r}	11,3 ^{abc r}	63,1 ^{abcd r}
Sol.	T14 C	15,5 ^{cd r}	3,9 ^{ab r}	1,9 ^{bcd r}	1,7 ^{abc r}	9,3 ^{ab s}	67,6 ^{abc r}
	T14 A	19,4 ^{def r}	3,2 ^{bc r}	2,5 ^{cd r}	1,4 ^{ab r}	12,0 ^{ab r}	61,4 ^{bcd r}
Sunv.	T14 C	20,4 ^{abc r}	3,9 ^{ab s}	1,7 ^{bcd r}	0,7 ^{e r}	6,9 ^{b s}	66,3 ^{abc r}
	T14 A	22,1 ^{cde r}	4,8 ^{a r}	1,9 ^{d r}	1,0 ^{bc r}	9,9 ^{abc r}	60,2 ^{bcd r}
BT-S	T14 C	12,1 ^{d s}	3,9 ^{ab r}	1,1 ^{cd r}	0,6 ^{e s}	7,1 ^{b r}	75,1 ^{a s}
	T14 A	19,9 ^{def r}	3,3 ^{bc r}	2,0 ^{d r}	1,0 ^{bc r}	9,3 ^{bc r}	64,6 ^{abc r}
Exc.	T14 C	17,3 ^{bcd r}	4,0 ^{ab r}	1,2 ^{cd r}	1,0 ^{de r}	9,3 ^{ab r}	67,3 ^{abc r}
	T14 A	16,9 ^{ef r}	3,4 ^{bc r}	2,1 ^{d r}	1,0 ^{bc r}	9,9 ^{abc r}	66,8 ^{ab r}
G/...	T14 C	16,5 ^{bcd r}	4,0 ^{ab r}	1,0 ^{d r}	0,8 ^{e r}	7,7 ^{b r}	70,0 ^{abc r}
	T14 A	17,5 ^{ef r}	3,1 ^{bc s}	1,6 ^{d r}	1,0 ^{bc r}	8,9 ^{bc r}	68,0 ^{ab r}
D/G//S	T14 C	14,6 ^{cd r}	4,5 ^{a r}	1,1 ^{cd r}	0,5 ^{e r}	6,9 ^{b r}	72,5 ^{ab r}
	T14 A	12,9 ^{f r}	3,1 ^{bc s}	2,0 ^{d r}	0,8 ^{c r}	9,1 ^{bc r}	72,1 ^{a r}
K/P//M/D	T14 C	16,0 ^{cd r}	3,7 ^{ab r}	1,2 ^{cd r}	0,7 ^{e r}	7,5 ^{b r}	70,8 ^{abc r}
	T14 A	20,7 ^{cdef r}	3,9 ^{ab r}	1,5 ^{d r}	0,9 ^{c r}	8,6 ^{c r}	64,4 ^{abc r}

As variações da abundância relativa dos AG refletiram-se nalgumas alterações do grau de insaturação (DBI) dos lípidos membranares (Figura 4.11). O forte aumento dos AG saturados foi o responsável pelo decréscimo do DBI em Alent., Nab., Arp. e BT-S. Só MC apresentou um aumento (64%) do DBI como resultado do decréscimo de C16:0 e C16:1 e aumento de C18:3. Nos restantes genótipos o DBI manteve-se inalterado, mostrando nalguns casos (Ch., Sol. K/P//M/D) tendência para uma redução (embora não significativa) após o alagamento.

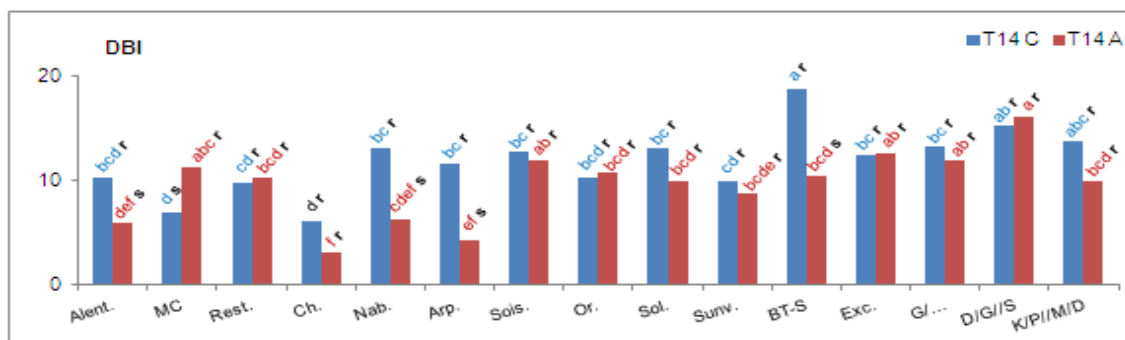


Figura 4.11 – Grau de insaturação (DBI, *double bond index*) dos lípidos foliares de plantas de 15 genótipos de *T. aestivum* L.. sujeitas a 14 dias de alagamento total. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo açúcar (a, b, c, d, e) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo açúcar, sendo (a) e (r) os maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

4.9. Impacto do alagamento na lipoperoxidação

Os aumentos de MDA refletem a ocorrência de lipoperoxidação e consequentes danos membranares, que promovem a senescência foliar. A produção de ROS induzida pelo alagamento e subsequente peroxidação lipídica foram já relatadas em várias culturas, incluindo o trigo (Wei et al., 2013; Herzog et al., 2016; Ren et al., 2016; Ullah et al., 2017; Zheng et al., 2017). Neste estudo observaram-se aumentos nos teores de MDA em plantas alagadas de Alent. (85 %), Nab. (46 %), Arp. (47 %) e BT-S (49 %) (Figura 4.12). Nestes quatro genótipos também se observou um decréscimo dos AGT, o que sugere a ocorrência de processos de degradação oxidativa dos lípidos membranares. Nos restantes genótipos, o alagamento não induziu alterações no conteúdo de MDA, estando associado a valores estáveis de DBI, que refletem uma manutenção da insaturação dos lípidos membranares excepto em MC, onde o DBI aumentou. Estas duas características (MDA e DBI sem alterações) poderão estar associadas a uma maior estabilidade membranar e resultar também de um melhor desempenho do sistema antioxidante das plantas, indicando uma menor suscetibilidade dos genótipos ao alagamento.

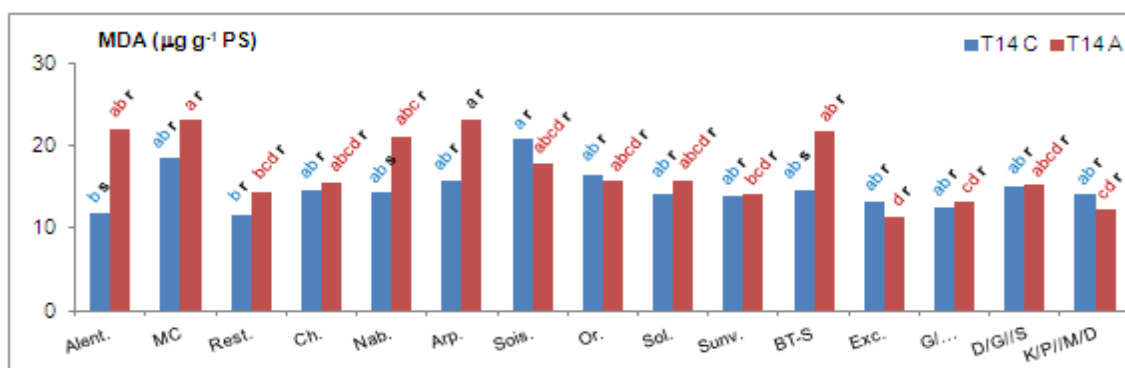


Figura 4.12 – Teor de malonildialdeído ($\mu\text{g g}^{-1}$ PS) em folhas de plantas de 15 genótipos de *T. aestivum* L.. sujeitas a 14 dias de alagamento total. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento. T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b, c, d, e), ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). Letras (a) e (r) correspondem aos maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

4.10. Efeito do alagamento nos macro e microelementos minerais das folhas

A variação dos teores dos macro e microelementos minerais foi avaliada nas folhas das plantas alagadas (A) e não alagadas (C) no fim dos 14 dias de tratamento. Observou-se que o alagamento provocou alterações nas concentrações de todos os elementos minerais com exceção do Mo que permaneceu inalterado (Tabelas 4.6 e 4.7).

Tabela 4.6 – Efeito de 14 dias de alagamento nos macroelementos de folhas de 15 genótipos de *T. aestivum* L.. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo elemento (a, b, c, d, e, f, g) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo elemento. Letras (a) e (r) correspondem aos maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

		Macroelementos			
		Ca (%)	K (%)	P (%)	S (%)
Alent.	T14 C	2,84 ^{a r}	4,87 ^{abc r}	2152 ^{def r}	1,23 ^{a r}
	T14 A	2,29 ^{cdefg s}	2,96 ^{def s}	1386 ^{abcde s}	0,64 ^{ab s}
MC	T14 C	2,47 ^{abc r}	3,95 ^{bcd r}	2228 ^{def r}	0,95 ^{bc r}
	T14 A	2,20 ^{defg r}	2,92 ^{ef r}	1568 ^{abcd s}	0,51 ^{ab s}
Rest.	T14 C	2,23 ^{abcd s}	3,65 ^{cd r}	1552 ^{efg r}	0,91 ^{bc r}
	T14 A	2,88 ^{bcd r}	4,13 ^{abcde r}	881 ^{defg s}	0,67 ^{a s}
Ch.	T14 C	2,81 ^{a r}	1,98 ^{e r}	687 ^{h r}	0,55 ^{cd r}
	T14 A	2,01 ^{efg s}	2,45 ^{f r}	224 ^{g r}	0,41 ^{b r}
Nab.	T14 C	2,54 ^{ab r}	3,20 ^{de r}	1028 ^{gh r}	0,88 ^{c r}
	T14 A	2,62 ^{bcdet r}	3,70 ^{bcdet r}	612 ^{etg r}	0,56 ^{ab s}
Arp.	T14 C	2,57 ^{ab s}	5,19 ^{abc r}	1775 ^{defg r}	0,79 ^{cd r}
	T14 A	3,31 ^{b r}	3,37 ^{cdef s}	420 ^{tg s}	0,41 ^{b s}
Sois.	T14 C	1,80 ^{bcd r}	5,98 ^{a r}	1474 ^{tg r}	0,84 ^{c r}
	T14 A	1,73 ^{g r}	4,90 ^{abc r}	684 ^{efg s}	0,47 ^{ab s}
Or.	T14 C	1,79 ^{bcd r}	4,84 ^{abc r}	1780 ^{drtg r}	0,78 ^{cd r}
	T14 A	1,75 ^{g r}	4,54 ^{abcd r}	1004 ^{cdefg s}	0,49 ^{ab s}
Sol.	T14 C	1,67 ^{cd r}	5,66 ^{a r}	1603 ^{efg r}	0,69 ^{cd r}
	T14 A	1,70 ^{g r}	4,49 ^{abcde r}	890 ^{defg s}	0,42 ^{b s}
Sunv.	T14 C	2,62 ^{a r}	5,70 ^{a r}	2177 ^{def r}	1,29 ^{a r}
	T14 A	2,70 ^{bcd r}	3,85 ^{abcde s}	1333 ^{abcde s}	0,72 ^{a s}
BT-S	T14 C	2,38 ^{abcd s}	6,02 ^{a r}	2283 ^{cde r}	1,21 ^{a r}
	T14 A	2,98 ^{bc r}	3,30 ^{cdef s}	1446 ^{bcdet s}	0,53 ^{ab s}
Exc.	T14 C	2,26 ^{abcd r}	5,16 ^{abc r}	2474 ^{bcd r}	0,95 ^{bc r}
	T14 A	2,07 ^{efg r}	5,04 ^{ab r}	1808 ^{ab s}	0,53 ^{ab s}
G/...	T14 C	1,62 ^{d r}	5,25 ^{ab r}	3167 ^{ab r}	0,93 ^{bc r}
	T14 A	1,92 ^{fg r}	4,49 ^{abcd r}	1794 ^{ab s}	0,58 ^{ab s}
D/G//S	T14 C	2,39 ^{abc r}	5,25 ^{ab r}	3345 ^{a r}	1,17 ^{ab r}
	T14 A	1,95 ^{fg r}	5,45 ^{a r}	2122 ^{a s}	0,70 ^{a s}
K/P//M/D	T14 C	2,82 ^{a s}	5,36 ^{ab r}	3027 ^{abc r}	1,15 ^{ab r}
	T14 A	3,90 ^{a r}	5,54 ^{a r}	1781 ^{abc s}	0,70 ^{a s}

Os teores de Ca mantiveram-se estáveis em todos os genótipos testados, exceto em Rest., Arp., BT-S e K/P//M/D, onde se registaram aumentos (30, 29, 25 e 38%, respetivamente), e em Alent. e Ch. com decréscimos de 19 e 29%, respetivamente (Tabela 4.6).

O K é o macroelemento mais abundante e aquele em que se registaram menores variações, apresentando reduções unicamente em Alent. (39%), Arp. (35%), Sunv. (32%) e BT-S (45%).

De uma forma geral, o alagamento reduziu o teor de S em todos os genótipos, com exceção de Ch. que permaneceu estável. Relativamente ao P, ocorreu um decréscimo em todos os genótipos excepto Ch. e Nab., que não sofreram alterações significativas. Arp. apresentou o maior decréscimo (76%) e Excalibur o menor (26 %) (Tabela 4.6).

Quanto aos micronutrientes, o Cl é o mais abundante, mostrando valores equivalentes a um macronutriente (Tabela 4.7). Este facto está de acordo com o esperado uma vez que o Cl está disponível de forma abundante na natureza e é absorvido ativamente pelas plantas. Franco-Navarro et al. (2015) referem que o Cl tem um papel na regulação do potencial osmótico foliar e da turgescência, e a sua acumulação pode ser considerada um sinal de adaptação com um papel relevante nas relações hídricas da planta. O Cl poderá estar envolvido na redução da transpiração como consequência de uma menor condutância estomática, resultando em menor perda de água e maior eficiência fotossintética e do uso da água.

Tabela 4.7 – Efeito de 14 dias de alagamento nos microelementos de folhas de 15 genótipos de *T. aestivum* L.. T14 C – Plantas não alagadas no 14º dia do tratamento; T14 A – Plantas alagadas no 14º do tratamento. Os valores apresentados correspondem a médias (n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo elemento (a, b, c, d, e, f, g) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo elemento. Letras (a) e (r) correspondem aos maiores valores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0.05$).

		Microelementos				
		Mo (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)	Fe (ppm)	Cl (%)
Alent.	T14 C	12,9 ^{ab r}	90,8 ^{a r}	69,2 ^{ab r}	106,1 ^{ab s}	2,75 ^{a r}
	T14 A	12,8 ^{a r}	56,0 ^{bcd s}	36,9 ^{bc s}	445,0 ^{d r}	1,31 ^{bcd s}
MC	T14 C	13,8 ^{ab r}	80,9 ^{ab r}	63,4 ^{abcd r}	78,5 ^{bc s}	2,38 ^{ab r}
	T14 A	12,4 ^{a r}	52,9 ^{bcd s}	40,1 ^{bc r}	277,2 ^{e r}	1,12 ^{bcd s}
Rest.	T14 C	13,5 ^{ab r}	50,1 ^{de r}	67,7 ^{abc r}	95,1 ^{ab s}	1,99 ^{bcd r}
	T14 A	12,6 ^{a r}	48,1 ^{bcd r}	37,4 ^{bc s}	261,9 ^{e r}	1,54 ^{abcd r}
Ch.	T14 C	15,3 ^{ab r}	73,1 ^{abcd r}	99,1 ^{a r}	81,4 ^{bc s}	1,26 ^{e r}
	T14 A	14,4 ^{a r}	86,4 ^{a r}	103,3 ^{a r}	597,1 ^{b r}	1,10 ^{bcd r}
Nab.	T14 C	12,1 ^{b r}	48,6 ^{de r}	39,0 ^{bcde r}	273,8 ^{a s}	1,50 ^{de r}
	T14 A	13,5 ^{a r}	33,1 ^{cd r}	18,6 ^{bc r}	134,6 ^{e r}	1,58 ^{abc r}
Arp.	T14 C	13,4 ^{ab r}	53,0 ^{cde r}	26,3 ^{e s}	88,2 ^{abc s}	1,49 ^{de r}
	T14 A	14,5 ^{a r}	57,8 ^{bc r}	53,8 ^{b r}	170,4 ^{f r}	1,22 ^{bcd r}
Sois.	T14 C	12,6 ^{ab r}	51,4 ^{de r}	30,5 ^{de r}	99,4 ^{ab s}	2,03 ^{bcd r}
	T14 A	12,6 ^{a r}	30,2 ^{d s}	17,5 ^{c r}	174,2 ^{f r}	1,20 ^{bcd s}
Or.	T14 C	12,5 ^{ab r}	50,2 ^{de r}	27,5 ^{de r}	85,5 ^{abc s}	2,14 ^{abcd r}
	T14 A	13,1 ^{a r}	40,0 ^{bcd r}	36,8 ^{bc r}	240,8 ^{e r}	1,44 ^{abcd s}
Sol.	T14 C	11,7 ^{b r}	40,4 ^{e r}	25,1 ^{e r}	76,2 ^{bc s}	1,75 ^{bcd e r}
	T14 A	11,7 ^{a r}	58,3 ^{bc r}	37,6 ^{bc r}	674,0 ^{a r}	1,21 ^{bcd s}
Sunv.	T14 C	12,6 ^{ab r}	81,6 ^{ab r}	30,8 ^{de r}	96,1 ^{ab s}	1,98 ^{bcd r}
	T14 A	12,0 ^{a r}	40,0 ^{bcd s}	22,0 ^{bc r}	509,2 ^{c r}	0,96 ^{cd s}
BT-S	T14 C	12,6 ^{ab r}	75,3 ^{abcd r}	32,6 ^{cde r}	91,2 ^{abc s}	2,20 ^{abc r}
	T14 A	12,3 ^{a r}	62,9 ^{ab r}	35,7 ^{bc r}	261,2 ^{e r}	2,06 ^{a r}
Exc.	T14 C	13,2 ^{ab r}	78,8 ^{abc r}	46,7 ^{bcde r}	41,1 ^{c s}	1,29 ^{e r}
	T14 A	12,4 ^{a r}	50,1 ^{bcd s}	31,7 ^{bc r}	233,0 ^{e r}	0,92 ^{d r}
G/...	T14 C	12,3 ^{b r}	63,1 ^{bcde r}	36,2 ^{bcde r}	45,4 ^{c s}	1,64 ^{bcd e r}
	T14 A	11,7 ^{a r}	47,0 ^{bcd r}	29,5 ^{bc r}	260,8 ^{e r}	1,13 ^{bcd s}
D/G//S	T14 C	11,5 ^{b r}	66,8 ^{abcde r}	36,5 ^{bcde r}	58,3 ^{bc s}	2,37 ^{ab r}
	T14 A	12,1 ^{a r}	49,7 ^{bcd r}	39,2 ^{bc r}	167,7 ^{f r}	1,43 ^{abcd s}
K/P//M/D	T14 C	13,2 ^{ab r}	72,8 ^{abcd r}	44,8 ^{bcde r}	96,9 ^{c s}	2,20 ^{abc r}
	T14 A	13,3 ^{a r}	54,0 ^{bcd r}	50,4 ^{bc r}	41,5 ^{g r}	1,63 ^{ab s}

Apesar da redução em alguns genótipos, no fim do alagamento os níveis de Cl mantiveram-se em concentrações muito superiores às mínimas consideradas críticas para o desenvolvimento adequado das plantas (0,01%) (Kirkby e Marschner, 2012), não atingindo no entanto níveis de toxicidade. Num estudo com plantas de tabaco, a acumulação para níveis próximos de 5% estimularam o crescimento da planta com um aumento da biomassa associado ao melhor estado hídrico das folhas, maior WUE e uma notável capacidade de economia de água (Franco-Navarro et al., 2016).

Nas plantas controlo o teor de Fe variou entre 41,5 e 106,1 ppm (K/P//M/D e Alent., respetivamente) tendo o alagamento provocado uma forte acumulação deste mineral em todos os genótipos (Tabela 4.7). Em condições nutricionais normais, o teor de Fe nas plantas varia entre ca. 50 e 300 ppm (Vose, 1982; de Varennes et al., 2003; Marschner e Marschner, 2012) o que se verificou em todas as plantas T14 C e na maioria das T14 A. Após 14 dias de alagamento, as plantas de Alent., Sunv., Ch. e Sol. apresentavam valores de Fe entre 445 e 674 ppm, podendo indicar alguma toxicidade por este elemento (Vose, 1982).

Com o alagamento, Alent. e Rest. apresentaram decréscimos de Cu (47 e 45 %, respetivamente). Este microelemento aumentou 105% em Arp., mantendo valores semelhantes aos das plantas controlo nos restantes genótipos (Tabela 4.7).

Apesar da tendência para um decréscimo do Zn com o alagamento, este só foi significativo em Alent., MC, Sois., Sunv. e Exc. (Tabela 4.7).

A hipóxia reduz a capacidade de absorção de água e nutrientes pelo sistema radicular. Esta redução conduz a um decréscimo dos teores de nutrientes nos tecidos da parte aérea (Liao e Lin, 2001; Parent et al., 2008) que é agravada devido à sua utilização para o crescimento dos tecidos (Herzog et al., 2016).

4.11. Efeito do alagamento no rendimento e componentes de produção

O alagamento pode trazer variações no rendimento final de *T. aestivum* L., sendo por isso importante acompanhar as alterações que ocorrem durante o desenvolvimento da planta e avaliar como são afetados os componentes da produção.

No final da maturação dos grãos (Escala Zadoks 90-92), foi comparada a produção de grão por planta (g planta^{-1}) nos 15 genótipos em estudo. Nas plantas não alagadas, as maiores produções foram obtidas em Sunv. e Alent. ($5,6 \text{ g planta}^{-1}$) e as menores em Sol. e Or. ($2,1$ e $2,3 \text{ g planta}^{-1}$, respetivamente) (Tabela 4.8).

Analisando o efeito do alagamento na produção de grão, expressa como variação da percentagem em relação ao controlo (Figura 4.13), não ocorreu impacto negativo em Exc., Or., K/P//M/D, D/G//S, G/... e MC ($\Delta \pm 10 \%$). À exceção de Or., estes genótipos destacaram-se pelo aumento da iWUE (embora não significativo em D/G//S) bem como pelo maior nº de raízes adventícias no final do alagamento (Exc.) ou pelo desenvolvimento precoce das raízes adventícias no início do tratamento (T2 A).

No trigo em condições de alagamento, a redução da produção de grão planta^{-1} é referida por vários autores como consequência da suscetibilidade de genótipos a este stresse abiótico (Olgun et al., 2008; Robertson et al., 2009; Marashi et al., 2010; Pampana et al., 2016; Ploschuk et al., 2018).

Tabela 4.8 – Efeito de 14 dias de alagamento na produção planta⁻¹ (g), Nº espigas planta⁻¹, Nº grãos espiga⁻¹, Peso do Hectolitro (PH, kg hL⁻¹) e Peso de mil grãos (PMG, g) em 15 genótipos de *T. aestivum* L.. C - Plantas não alagadas; T14 A - Plantas alagadas. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos para o mesmo parâmetro (a, b, c, d, e, f) no mesmo tratamento, ou para determinado genótipo nos diferentes tratamentos (r, s) e mesmo parâmetro. Letras (a) e (r) correspondem aos maiores valores. (Anova de fator duplo, p ≤0.05).

		Produção planta ⁻¹ (g)	Espigas planta ⁻¹ (nº)	Grãos espiga ⁻¹ (nº)	PH (kg hL ⁻¹)	PMG (g)
Arp.	C	3,0 ^{bc r}	5,0 ^{bcd r}	18,0 ^{d r}	70,6 ^{a r}	32,4 ^{abc r}
	A	0,5 ^{d s}	2,1 ^{d s}	10,7 ^{e s}	55,5 ^{e s}	20,2 ^{def s}
Nab.	C	3,2 ^{bc r}	4,0 ^{cd r}	35,0 ^{a r}	74,7 ^{a r}	23,8 ^{d r}
	A	1,1 ^{cd s}	2,0 ^{d s}	32,7 ^{a r}	63,7 ^{de s}	16,8 ^{f s}
Sol.	C	2,1 ^{c r}	3,8 ^{cd r}	19,1 ^{d r}	72,6 ^{a r}	29,8 ^{bcd r}
	A	0,9 ^{cd s}	2,4 ^{d s}	14,7 ^{de s}	67,8 ^{cd s}	25,1 ^{cde s}
Sunv.	C	5,6 ^{a r}	8,3 ^{a r}	21,6 ^{cd r}	78,2 ^{a r}	31,6 ^{bcd r}
	A	3,5 ^{ab s}	7,7 ^{a r}	16,6 ^{cde s}	77,6 ^{a r}	26,2 ^{cde s}
BT-S	C	3,0 ^{bc r}	6,2 ^{abc r}	25,1 ^{bcd r}	77,2 ^{a r}	23,6 ^{d r}
	A	1,9 ^{bcd s}	4,8 ^{bc s}	22,0 ^{bcd r}	73,9 ^{abc r}	17,9 ^{ef s}
Sois.	C	2,9 ^{bc r}	3,7 ^{d r}	25,1 ^{bcd r}	73,0 ^{a r}	32,2 ^{abc r}
	A	1,9 ^{bcd s}	3,6 ^{bcd r}	22,1 ^{bcd r}	69,3 ^{bcd r}	27,3 ^{bcd s}
Rest.	C	2,8 ^{bc r}	3,1 ^{d r}	25,5 ^{abcd r}	74,5 ^{a r}	32,3 ^{abc r}
	A	1,9 ^{bcd s}	2,9 ^{cd r}	21,7 ^{bcd r}	72,4 ^{abc r}	29,0 ^{bc r}
Alent.	C	5,6 ^{a r}	6,8 ^{ab r}	23,8 ^{bcd r}	75,1 ^{a r}	32,5 ^{abc r}
	A	4,1 ^{ab s}	6,0 ^{ab r}	17,7 ^{cde s}	73,3 ^{abc r}	34,3 ^{ab r}
Ch.	C	3,9 ^{abc r}	4,4 ^{bcd r}	30,7 ^{abc r}	73,6 ^{a r}	29,5 ^{bcd r}
	A	3,0 ^{abc s}	4,0 ^{bcd r}	29,0 ^{ab r}	69,8 ^{abcd r}	26,3 ^{cde r}
MC	C	4,5 ^{ab r}	4,4 ^{bcd r}	27,8 ^{abcd r}	75,0 ^{a r}	37,5 ^{ab r}
	A	4,1 ^{ab r}	4,3 ^{bcd r}	26,7 ^{ab r}	74,2 ^{abc r}	35,1 ^{ab r}
G/,,,	C	2,9 ^{bc r}	3,7 ^{d r}	23,2 ^{bcd r}	75,8 ^{a r}	34,5 ^{ab r}
	A	2,6 ^{abcd r}	3,3 ^{cd r}	25,1 ^{abc r}	74,2 ^{abc r}	31,1 ^{abc r}
D/G//S	C	3,5 ^{abc r}	3,2 ^{d r}	30,2 ^{abc r}	76,5 ^{a r}	36,3 ^{ab r}
	A	3,5 ^{ab r}	3,3 ^{cd r}	29,7 ^{ab r}	77,8 ^{a r}	34,9 ^{ab r}
Exc.	C	4,3 ^{ab r}	4,3 ^{cd s}	31,3 ^{ab r}	76,1 ^{a r}	30,4 ^{bcd r}
	A	4,7 ^{a r}	6,0 ^{ab r}	25,7 ^{abc s}	76,9 ^{ab r}	30,9 ^{abc r}
K/P//M/D	C	4,5 ^{ab r}	4,9 ^{bcd r}	23,7 ^{bcd r}	75,3 ^{a r}	39,7 ^{a r}
	A	4,6 ^{a r}	5,2 ^{bc r}	24,8 ^{abc r}	76,8 ^{ab r}	37,3 ^{a r}
Or.	C	2,3 ^{bc r}	5,3 ^{bcd r}	20,0 ^{d r}	70,2 ^{a r}	26,3 ^{cd r}
	A	2,4 ^{abcd r}	5,1 ^{bc r}	23,9 ^{abcd r}	70,8 ^{abcd r}	20,5 ^{def s}

No presente trabalho observaram-se decréscimos acentuados (21 a 85 %) em 9 dos 15 genótipos em estudo (Ch., Nab., Sol., Sunv., BT-S, Sois., Rest., Alent. e Arp.) (Figura 4.13). Estes decréscimos poderão ser reflexo da redução dos pigmentos fotossintéticos durante o alagamento e da incapacidade de recuperação para valores controle em 7 destes genótipos alagados, resultando na maioria deles em reduções da Pn e acumulação de açúcares solúveis devido a restrições metabólicas. O maior decréscimo da produção (85%) foi observado em Arp. em concomitância com o menor nº de raízes adventícias.

O alagamento não provocou alterações no nº de espigas planta⁻¹ na maioria dos genótipos, tendo sido observado um aumento em Exc. (38%) e decréscimos em Arp. (58 %), Nab. (50 %), Sol. (35 %) e BT-S (23 %) (Tabela 4.8). Nas plantas alagadas, o maior nº de espigas foi atingido em Sunv. (7,8), Alent. (6,0) e Exc. (6,0) e o menor em Nab. (2,0) e Arp. (2,1) (Tabela 4.8). Herzog et al. (2016) referem que com o alagamento, o nº de espigas planta⁻¹, que depende do número de filhos férteis no final do ciclo, tem uma grande influência na produção final, obser-

vando-se reduções deste componente da produção em genótipos sensíveis. Outros autores defendem que a redução do nº de espigas planta⁻¹ é inversamente proporcional à tolerância ao alagamento, ou seja, quanto menor a redução, maior a tolerância (Singh et al., 2017).

No nº de grãos espiga⁻¹ observaram-se decréscimos em Arp. (41 %), Alent. (26 %), Sol. (23 %), Sunv. (23 %) e Exc. (18 %) (Tabela 4.8), o que está de acordo com o observado em estudos semelhantes (Collaku e Harrison, 2002; Olgun et al., 2008; Amri et al., 2014). Nas plantas sujeitas ao alagamento, Arp. apresentou o menor valor e Nab. o maior (Tabela 4.8).

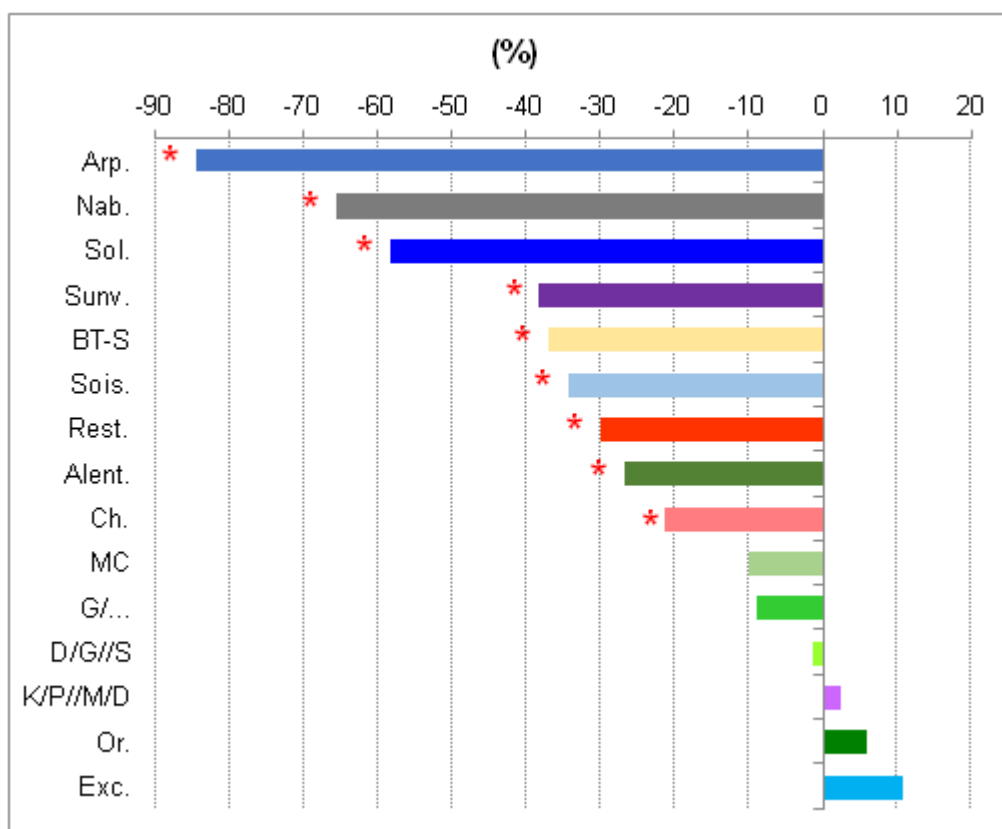


Figura 4.13 - Efeito do alagamento na produção de grão (g planta⁻¹), expressa como variação da percentagem em relação ao controle, em genótipos de *T. aestivum* L. Os valores apresentados correspondem a médias (n=9). Símbolo * indica os genótipos onde se observaram diferenças significativas entre plantas alagadas e não alagadas.

Em estudos de alagamento, Collaku e Harrison (2002) referem decréscimos no rendimento em *T. aestivum* L. como resultado da redução de todos os componentes de produção, com maior impacto no nº de espigas por planta e no nº de grãos por espiga, sugerindo estes dois parâmetros como critérios de seleção de genótipos tolerantes ao alagamento.

O peso do hectolitro (PH) apresentou decréscimos em Arp., Nab. e Sol. (21, 15 e 7 %, respetivamente) mantendo-se inalterado nos restantes genótipos (Tabela 4.8).

O peso de mil grãos (PMG) manteve-se inalterado em 8 genótipos (Rest., Alent., Ch., MC, G/..., D/G//S, Exc. e K/P//M/D) apresentando decréscimos nos restantes. As reduções mais acentuadas foram observadas em Arp. (38 %) e Nab. (29 %) (Tabela 4.8). Estes resultados são conondantes com os estudos de Marashi et al. (2010), que referem reduções do PMG em plantas de

trigo sujeitas a 7 ou 14 dias de alagamento. Olgun et al. (2008) também observaram decréscimos em plantas sujeitas a 5 ou 50 dias de alagamento (8,4 a 89,4 %, respetivamente).

De uma forma geral o melhor desempenho, refletido numa produção estável após alagamento, foi observado em MC, G/..., D/G//S e K/P//M/D, não havendo afetação dos componentes da produção avaliados.

Em Or. o decréscimo (22%) no PMG, provavelmente associado a menor tamanho do grão (PH inalterado) foi compensado por um aumento do nº de grãos espiga⁻¹ que, apesar de não significativo, permitiu manter os valores da produção.

Apesar da redução do nº de grãos espiga⁻¹ observado em Exc., este genótipo manteve boas produções devido ao aumento do nº de espigas por planta induzido pelo alagamento. A redução da produção observada em Alent. (27 %), resultante também do decréscimo do nº de grãos espiga⁻¹, não impediu que esta variedade atingisse, no alagamento, uma produção semelhante (4,1 g planta⁻¹) à dos genótipos alagados com produções mais elevadas (K/P//M/D, Exc. e MC, 4,1 a 4,6 g planta⁻¹).

Nos genótipos Nab. e Arp, cuja produção foi mais afetada, para além da redução do nº de espigas por planta (devido a menor sobrevivência dos filhos), o alagamento poderá também ter sido um fator limitante do enchimento do grão, como sugerido pelo decréscimo do PH. Singh et al. (2017) referem reduções do PH (28,5 e 19, 5 %) em dois genótipos suscetíveis ao alagamento.

5. Conclusões

O alagamento conduz a situações de hipóxia ou anóxia, que afetam as plantas a vários níveis podendo reduzir a produção. Algumas características genotípicas podem resultar numa maior tolerância ao stresse. No presente trabalho foi possível observar uma grande variabilidade genética nas respostas ao alagamento no germoplasma de trigo mole testado. Os indicadores ecofisiológicos utilizados permitiram distinguir os genótipos suscetíveis dos tolerantes.

Os decréscimos de produção de grão (g planta⁻¹) ocorridos em Ch., Nab., Sol., Sunv., BT-S, Sois., Rest., Alent. e Arp. (21 a 85 %) constituem um forte indicador de suscetibilidade ao alagamento. Poderão ser resultado da degradação dos pigmentos fotossintéticos associada a reduções da fotossíntese e perturbações metabólicas diversas, causando a acumulação de açúcares devido a uma menor capacidade de utilização dos mesmos. O aumento do MDA, bem como o decréscimo dos ácidos gordos totais e do seu grau de insaturação, observados em Alent., BT-S, Arp. e Nab., sugere uma menor eficácia do sistema antioxidativo nestes genótipos. A produção foi mais afetada em Arp. Nab. (reduções de 85 e 66 %, respetivamente), o que poderá estar relacionado, entre outros, com a menor sobrevivência dos filhos e uma reduzida capacidade de produzir raízes adventícias.

A ausência de afetação na produção (< 10 %) em Exc., K/P//M/D, D/G//S, G/... e MC, associada a um aumento da eficiência do uso da água, pode ser indicador de um melhor desempenho das plantas em alagamento. O aparecimento precoce de raízes adventícias (K/P//M/D, D/G//S, G/...), ou a sua maior abundância no final do alagamento (Exc.), terão contribuído de forma determinante para uma maior tolerância destes genótipos.

6. Bibliografia

- Ahmed F, Rafii MY, Ismail MR, Juraimi AS, Rahim HA, Asfaliza R, Latif MA (2013). Waterlogging Tolerance of crops: Breeding, mechanism of tolerance, molecular approaches, and future prospects. *Biomed Res Int*, Article ID 963525. DOI: 10.1155/2013/963525.
- Alizadeh-Vaskasi F, Pirdashti H, Araei AC, Saadatmand S (2018). Waterlogging effects on some antioxidant enzymes activities and yield of three wheat promising lines. *Acta Agr Slov*, 111(3):621-631. DOI: 10.14720/aas.2018.111.3.10.
- Almeida ML, Sangoi L, Ender M, Trentin PS (2000). Definition of wheat tiller emission by red and far red light. *Pesq Agrop Gaúcha* 6(1):89-96.
- Alzueta, I, Abeledo LG, Mignone CM, Miralles DJ (2012). Differences between wheat and barley in leaf and tillering coordination under contrasting nitrogen and sulfur conditions. *Eur. J Agron*, 41:92-102. DOI: 10.1016/j.eja.2012.04.002.
- Amri M, Ouni MH el, Salem MB (2014). Waterlogging affect the development, yield and components, chlorophyll content and chlorophyll fluorescence of six bread wheat genotypes (*Triticum aestivum* L.). *Bulg J Agr Sci*, 20(3):647-657.
- Anjum SA, Xie XY, Wang LC, Saleem MF, Man C, Lei W (2011). Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. *Afr J Agr Res*, 6(9):2026-2032. DOI: 10.5897/AJAR10.027.
- Araki H, Hamada A, Hossain MA, Takahashi T (2012). Waterlogging at jointing and/or after anthesis in wheat induces early leaf senescence and impairs grain filling. *Field Crop Res*, 137:27-36. DOI: 10.1016/j.fcr.2012.09.006.
- Argenta G, Silva PRF, Bortolini CG, Forsthofer EL, Strieder ML (2001). Relação da leitura do clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. *Rev Bras Fisiol Veg*, 13(2):158-167. DOI: 10.1590/S0103-31312001000200005.
- Armstrong W, Beckett PM (2010). Experimental and modeling data contradict the idea of respiratory downregulation in plant tissues at an internal [O₂] substantially above the critical oxygen pressure for cytochrome oxidase. *New Phytol*, 190:431-441. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03537.x.
- Ashraf MA (2012). Waterlogging stress in plants: A review. *Afr J Agr Res*, 7(13):1976-1981 DOI: 10.5897/AJARX11.084.
- Avola G, Cavallaro V, Patane C, Riggi E (2008). Gas exchange and photosynthetic water use efficiency in response to light, CO₂ concentration, and temperature in *Vicia faba*. *J Plant Physiol*, 26:769-804. DOI: 10.1016/j.jplph.2007.09.004.
- Ayala A, Muñoz M, Argüelles S (2014). Lipid peroxidation: Production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev*, 2014:360438. DOI: 10.1155/2014/360438.
- Ayi Q, Zeng B, Liu J, Li S, Bodegom PM van, Cornelissen JHC (2016). Oxygen absorption by adventitious roots promotes the survival of completely submerged terrestrial plants. *Ann Bot*, 118:675-683. DOI: 10.1093/aob/mcw051.
- Bali AS, Sidhu GPS (2019). Abiotic stress-induced oxidative stress in wheat. *In: Wheat production in changing environments - Responses, adaptation and tolerance*. Hasanuzzaman M, Nahar K, Hossain Md A (Eds.). Springer Singapura. ISBN 978-981-13-6883-7

- Barickman TC, Simpson CR, Sams CE (2019). Waterlogging causes early modification in the physiological performance, carotenoids, chlorophylls, proline, and soluble sugars of cucumber plants. *Plants*, 8(6):160. DOI: 10.3390/plants8060160.
- Bazzoffi P, Nieddu S (2011). Effects of waterlogging on the soil structure of some Italian soils in relation to the GAEC cross-compliance standard. Maintenance of farm channel networks and field convexity. *Ital J Agron*, 6(s1):e9. DOI: 10.4081/ija.2011.6.s1.e9.
- Berry PM, Spink JH, Foulkes MJ, Wade A (2003). Quantifying the contributions and losses of dry matter from non-surviving shoots in four cultivars of winter wheat. *Field Crop Res*, 80:111-121. DOI: 10.1016/S0378-4290(02)00174-0.
- Bhagat KP, Kumar RA, Ratnakumar P, Kumar S, Bal SK, Agrawal PK (2014). Photosynthesis and associated aspects under abiotic stresses environment. *In: Approaches to plant stress and their management*. Gaur RP, Sharma P (Eds.). Springer, India. DOI: 10.1007/978-81-322-1620-9_10.
- Blokhina O, Fagerstedt KV (2010). Oxidative metabolism, ROS and NO under oxygen deprivation. *Plant Physiol Biochem*, 48(5):359-373. DOI: 10.1016/j.plaphy.2010.01.007.
- Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot*, 91:179-194. DOI: 10.1093/aob/mcf118.
- Botwright TL, Condon AG, Rebetzke GJ, Richards RA (2002). Field evaluation of early vigour for genetic improvement of grain yield in wheat. *Aust J Agric Res*, 53:1137-1145. DOI: 10.1071/AR02007.
- Brady NC, Weil RR (2008). *The nature and properties of soils*. 14th ed. 965 p. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA. ISBN: 9780132279383.
- Bramley H, Tyerman SD (2010). Root water transport under waterlogged conditions and the roles of aquaporins in transport of water and other solutes relevant to oxygen deficient conditions. *In: Waterlogging signalling and tolerance in plants*. Mancuso S, Shabala S (Eds.). Springer, Heidelberg. ISBN 978-3-642-10304-9.
- Brewster C, Hayes F, Fenner N (2019). Ozone tolerance found in *Aegilops tauschii* and primary synthetic hexaploid wheat. *Plants*, 8:195. DOI: 10.3390/plants8070195.
- Bünemann EK, Mäder P, Wohlfahrt J, Brussaard L, Bongiorno G, Goede R, Geissen V, Sukkel W, Bai Z, Caspari T (2016). Concepts and indicators of soil quality - a review. ISQAPER Ref. Ares 6570044. (Acedido em 1/8/2019). Disponível em; <https://ec.europa.eu/research/participants/documents/downloadPublic?documentIds=080166e5ae63cb0e&appId=PPGMS>.
- Calvo-Polanco M, Señorans J, Zwiazek JJ (2012). Role of adventitious roots in water relations of tamarack (*Larix laricina*) seedlings exposed to flooding. *BMC Plant Biol*, 12:99 DOI: 10.1186/1471-2229-12-99.
- Campos PS, Quartin VL, Ramalho JC, Nunes MA (2003). Electrolyte leakage and lipid degradation account for cold sensitivity in leaves of *Coffea* sp. plants. *J Plant Physiol*, 160: 283-292. DOI:10.1078/0176-1617-00833.
- Carmo DL, Lima LB, Silva CA (2016). Soil fertility and electrical conductivity affected by organic waste rates and nutrient inputs. *Rev Bras Cienc Solo*, 40:e0150152. DOI: 10.1590/18069657rbcs20150152.

- Castanheira N, Dourado AC, Pais I, Semedo J, Scotti-Campos P, Borges N, Carvalho G, Crespo MTB, Fareleira P (2017). Colonization and beneficial effects on annual ryegrass by mixed inoculation with plant growth promoting bacteria. *Microbiol Res*, 198:47-55. DOI: 10.1016/j.micres.2017.01.009.
- Collaku A, Harrison SA (2002). Losses in wheat due to waterlogging. *Crop Sci*, 42:444-450. DOI: 10.2135/cropsci2002.4440.
- Damesin C, Lelarge C (2003). Carbon isotope composition of current year shoots from *Fagus sylvatica* in relation to growth, respiration and use of reserves. *Plant Cell Environ*, 26:207-219. DOI: 10.1046/j.1365-3040.2003.00951.x.
- de San Celedonio RP, Abeledo LG, Brihet J, Miralles DJ (2016). Waterlogging affects leaf and tillering dynamics in wheat and barley. *J Agron Crop Sci*, 202:409-420. DOI: 10.1111/jac.12151.
- de San Celedonio RP, Abeledo LG, Mantese AI, Miralles DJ (2017). Differential root and shoot biomass recovery in wheat and barley with transient waterlogging during preflowering. *Plant Soil*, 417:481-498. DOI:10.1007/s11104-017-3274-1.
- de San Celedonio RP, Micheloud JR, Abeledo GL, Miralles DJ, Slafer GA (2014a). Riesgo de anegamiento en trigo (*Triticum aestivum* L.) para distintas localidades de la region triguera argentina. *Ciencia Suelo*, 32:233-246.
- de San Celedonio RP, Abeledo LG, Miralles DJ (2014b). Identifying the critical period for waterlogging on yield and its components in wheat and barley. *Plant Soil*, 378:265-277. DOI: 10.1007/s11104-014-2028-6.
- Demidchik V, Straltsova D, Medvedev SS, Pozhvanov GA, Sokolik A, Yurin V (2014). Stress-induced electrolyte leakage: the role of K⁺-permeable channels and involvement in programmed cell death and metabolic adjustment. *J Exp Bot*, 65(5):1259-1270. DOI: 10.1093/jxb/eru004.
- Dholakia BB, Ammiraju JSS, Singh H, Lagu MD, Röder MS, Rao VS, Dhaliwal HS, Ranjekar PK, Gupta VS (2003). Molecular marker analysis of kernel size and shape in bread wheat. *Plant Breed.*, 122:392-395. DOI: 10.1046/j.1439-0523.2003.00896.x.
- Dias AS, Barreiro MG, Campos PS, Ramalho JC, Lidon FC (2010). Wheat cellular membrane thermotolerance under heat stress. *J Agron Crop Sci*, 196:100-108. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2009.00398.x.
- Dickin E, Wright D (2008). The effects of winter waterlogging and summer drought on the growth and yield of winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Eur J Agron*, 28(3):234-244. DOI: 10.1016/j.eja.2007.07.010.
- Driver SM, Lawson T, Andralojc PJ, Raines CA, Parry MAJ (2014). Natural variation in photosynthetic capacity, growth, and yield in 64 field-grown wheat genotypes. *J Exp Bot*, 65(17):4959-4973. DOI:10.1093/jxb/eru253.
- Duhan S, Kumari A, Lal M, Sheokand S (2019). Oxidative stress and antioxidant defense under combined waterlogging and salinity stresses. *In: Reactive oxygen, nitrogen and sulfur species in plants: Production, metabolism, signaling and defence mechanisms*. Hasanuzzaman M, Fotopoulos V, Nahar K, Fujita M (Eds.). John Wiley & Sons Ltd, India. ISBN: 9781119468677.

- Dumroese RK, Montville ME, Pinto JR (2015). Using container weights to determine irrigation needs: a simple method. *Native Plants*, 16(1):67-71. DOI: 10.3368/npj.16.1.67.
- Duro N, Costa M, Batista-Santos P, Scotti-Campos P, Pais IP, Colwell F, Rodrigues AP, Semedo JN, Lidon FC, Ramalho JC, Pawlowski K, Ribeiro-Barros AI (2016). Salt stress tolerance in *Casuarina glauca* and its relation with nitrogen-fixing *Frankia* bacteria. *In: Biological nitrogen fixation and beneficial plant-microbe interaction*. González-Andrés F, James E (Eds.). Springer, Cham. ISBN: 978-3-319-32528-6.
- Fagerstedt K, Blokhina O, Pucciariello C, Perata P (2013). Flooding tolerance mechanisms in roots. *In: Plant Roots - The Hidden Half, Part V - Root response to stress*. 32-32-1 Eshel A, Beeckman T (Eds). CRC Press, Taylor & Francis Group. ISBN 13: 978-1-4398-4649-0.
- FAO, Food and Agriculture Organization (2015). Food and Agriculture Organization of the United Nations. (Acedido a 25 Julho 2019).Disponivel em: <http://www.fao.org/3/abc600e.pdf>
- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Statistics Division. (Acedido a 25 Julho de 2019). Disponivel em <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- Fortunato A, Lidon FC, Batista-Santos P, Leitão AE, Pais IP, Ribeiro AI, Ramalho JC (2010). Biochemical and molecular characterization of the antioxidative system of *Coffea sp.* under cold conditions in genotypes with contrasting tolerance. *J Plant Physiol*, 167: 333-342. DOI:10.1016/j.jplph.2009.10.013.
- Foyer CH, Ruban AV, Nixon PJ (2017). Photosynthesis solutions to enhance productivity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 372(1730):20160374. DOI: 10.1098/rstb.2016.0374.
- Franco-Navarro JD, Brumós J, Rosales MA, Cubero-Font P, Talón M, Colmenero-Flores JM (2015). Chloride regulates leaf cell size and water relations in tobacco plants. *J Exp Bot*, 67(3):873-891. DOI: 10.1093/jxb/erv502.
- Fu Y-B (2015). Understanding crop genetic diversity under modern plant breeding. *Their Appl Genet*, 128:2131-2142. DOI: 10.1007/s00122-015-2585-y.
- Fukao T, Barrera-Figueroa BE, Juntawong P, Peña-Castro JM (2019). Submergence and waterlogging stress in plants: a review. Highlighting research opportunities and understudied aspects. *Front Plant Sci*, 10:340. DOI: 10.3389/fpls.2019.00340.
- Galinha C, Freitas MC, Pacheco AMG (2013). Elemental characterization of bread and durum wheat by instrumental neutron activation analysis. *J Radioanal Nucl Chem*, 297:221-226. DOI: 10.1007/s10967-012-2368-8.
- Generosova IP, Vartapetian BB (2005). On the physiological role of anaerobically synthesized lipids in *Oryza sativa* seedlings. *Russ J Plant Physiol*, 52(4):481-488: DOI: 10.1007/s11183-005-0071-0.
- Gibbs J, Greenway H (2003). Mechanisms of anoxia tolerance in plants. I. Growth, survival and anaerobic catabolism. *Funct Plant Biol*, 30:1-47. DOI: 10.1071/PP98095.
- Greenway H, Armstrong W, Colmer TD (2006). Conditions leading to high CO₂ (>5 kPa) in waterlogged-flooded soils and possible effects on root growth and metabolism. *Ann Bot*, 98:9-32. DOI: 10.1093/aob/mcl076.
- Hashimoto H, Uragami C, Cogdell RJ (2016). Carotenoids and photosynthesis. *Subcell Biochem*, 79:111-39. DOI: 10.1007/978-3-319-39126-7_4.

- Hawkesford MJ, Araus J-L, Park R, Calderini D, Miralles D, Shen T, Zhang J, Parry MAJ (2013). Prospects of doubling global wheat yields. *Food Energy Secur*, 2:34-48. DOI: 10.1002/fes3.15.
- Hayashi T, Yoshida T, Fujii K, Mitsuya S, Tsuji T, Okada Y, Hayashi E, Yamauchi A (2013). Maintained root length density contributes to the waterlogging tolerance in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Field Crop Res*, 152:27-35. DOI: 10.1016/j.fcr.2013.03.020.
- Hazelton PA, Murphy B (2007). Soil chemical properties. *In: Interpreting Soil Test Results: What do all the numbers mean?* CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria. ISBN 978-0-643092-25-9.
- Heinemann JA, Massaro M, Coray DS, Agapito-Tenfen SZ, Wen JD (2013). Sustainability and innovation in staple crop production in the US Midwest. *Int J Agric Sustain*, 12:71-88. DOI: 10.1080/14735903.2013.806408.
- Herzog M, Striker GG, Colmer TD, Pedersen O (2016). Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat - a review of root and shoot physiology. *Plant Cell Environ*, 39:1068-1086. DOI: 10.1111/pce.12676.
- Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK (1999). Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 207:604-611. DOI: 10.1007/s004250050524.
- Hörtensteiner S (2006). Chlorophyll degradation during senescence. *Annu Rev Plant Biol*, 57:55-77. DOI: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105212.
- Hossain MA, Uddin SN (2011). Mechanisms of waterlogging tolerance in wheat: morphological and metabolic adaptations under hypoxia or anoxia. *Aust J Crop Sci*, 5:1094-1101.
- Huang B., Jonhson JW (1995). Root respiration and carbohydrate status of two wheat genotypes in response to hypoxia. *Ann Bot*, 75(4):427-432. DOI: 10.1006/anbo.1995.1041.
- Ilker E, Altinbas M, Tosun M (2009). Selection for test weight and kernel weight in high yielding wheat using a safety-first index. *Turk J Agric For*, 33(1):37-45. DOI: 10.3906/tar-0802-6.
- INE (2017). *Balança Alimentar Portuguesa 2012-2016*. ISBN: 978-989-25-0389-9.
- IPCC (2014). *Climate change 2014: Mitigation of climate change. Contribution of working group III to the fifth assessment report of the intergovernmental panel on climate change*. Edenhofer O, Pichs-Madruga R, Sokona Y, Farahani E, Kadner S, Seyboth K, Adler A, Baum I, Brunner S, Eickemeier P, Kriemann B, Savolainen J, Schlömer S, von Stechow C, Zwickel T, Minx JC (Eds.). Cambridge, Cambridge University Press, UK and New York, USA.
- IWGSC, International wheat genome sequencing consortium (2014). A chromosome-based draft sequence of the hexaploid bread wheat (*Triticum aestivum*) genome. *Science*, 345(6194):1251788. DOI: 10.1126/science.1251788.
- Jesus SV, Marengo RA (2008). The SPAD-502 as alternative for determining chlorophyll content in fruit tree species. *Acta Amaz*, 38(4):815-818. DOI: 10.1590/S0044-59672008000400029.
- Jia JZ, Zhao SC, Kong XY, Li Y, Zhao G, He W, Appels R, Pfeifer M, Tao Y, Zhang X, Jing R, Zhang C, Ma Y, Gao L, Gao C, Spannagl M, Mayer KF, Li D, Pan S, Zheng F, Hu Q, Xia X, Li J, Liang Q, Chen J, Wicker T, Gou C, Kuang H, He G, Luo Y, Keller B, Xia Q, Lu P, Wang J, Zou H, Zhang R, Xu J, Gao J, Middleton C, Quan Z, Liu G, Wang J, IWGSC, Yang H, Liu X,

- He Z, Mao L, Wang J (2013). *Aegilops tauschii* draft genome sequence reveals a gene repertoire for wheat adaptation. *Nature*, 496:91-95. DOI: 10.1038/nature12028.
- Kaiser E, Morales A, Harbinson J, Kromdijk J, Heuvelink E, Marcelis LFM (2014). Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. *J Exp Bot*. DOI: 10.1093/jxb/eru406.
- Kirkby E, Marschner P (2012). Introduction, definition and classification of nutrients. *In*: Marschner P (Ed.), *Marschner's mineral nutrition of higher plants*, 3rd ed., San Diego, Academic Press, 3-5. ISBN 9780123849069.
- Kruger EL, Volin JC (2006). Reexamining the empirical relation between plant growth and leaf photosynthesis. *Func Plant Biol*, 33:421-429. DOI: 10.1071/FP05310.
- Kuiper PJC, Walton CS, Greenway H (1994). Effects of hypoxia on ion uptake by nodal and seminal wheat roots. *Plant Physiol Biochem*, 32:267-276.
- Latowski D, Kuczyńska P, Strzałka K (2011). Xanthophyll cycle - a mechanism protecting plants against oxidative stress. *Redox Rep: Comm Free Radical Res*, 16(2):78-90. DOI: 10.1179/174329211X13020951739938.
- Lee B, Zhu JK (2010). Phenotypic analysis of *Arabidopsis* mutants: electrolyte leakage after freezing stress. *Cold Spring Harbour Protocols*, 5(1):pdb.prot4970. DOI: 10.1101/pdb.prot4970.
- Lee SC, Mustroph A, Sasidharan R, Vashisht D, Pedersen O, Oosumi T, Voesenek LACJ, Bailey-Serres J (2011). Molecular characterization of the submergence response of the *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia. *New Phytol*, 190:457-471. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03590.x.
- Li J, Thomson M, McCouch S (2004). Fine mapping of a grain-weight quantitative trait locus in the pericentromeric region of rice chromosome. *Genetics*, 168:2187-2195. DOI: 10.1534/genetics.104.034165.
- Liao CT, Lin CH (2001). Physiological adaptation of crop plants to flooding stress. *Proc Natl Sci Counc Repub China B*, 25:148-157.
- Lichtenthaler HK (1987). Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method Enzymol*, 148:350-382. DOI: 10.1016/0076-6879(87)48036-1.
- Ling HQ, Zhao S, Liu D, Wang J, Sun H, Zhang C, Fan H, Li D, Dong L, Tao Y, Gao C, Wu H, Li Y, Cui Y, Guo X, Zheng S, Wang B, Yu K, Liang Q, Yang W (2013). Draft genome of the wheat A-genome progenitor *Triticum urartu*. *Nature*, 496:87-90. DOI: 10.1038/nature11997.
- Ling Q, Huang, W, Jarvis, P (2011). Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynth Res*, 107(2):209-214. DOI: 10.1007/s11120-010-9606-0.
- Logan BA, Adams WW, Demmig-Adams B (2007). Avoiding common pitfalls of chlorophyll fluorescence analysis under field conditions. *Funct Plant Biol*, 34:853-859. DOI: 10.1071/FP07113.
- Lone AA, Khan MH, Dar ZA, Wani SH (2016). Breeding strategies for improving growth and yield under waterlogging conditions in maize: a review. *Maydica*, 61:11.
- Long SP, Zhu XG, Naidu SL, Ort DR (2006). Can improvement in photosynthesis increase crop yields? *Plant Cell Environ*, 29:315-330. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2005.01493.x.

- Lopez FB, Barclay GF (2017). Plant anatomy and physiology. *In: Pharmacognosy - Fundamentals, applications and strategies*. Badal S, Delgoda R (Eds.). 4:4-60, Elsevier Academic Press. ISBN 978-0-12-802104-0. DOI:10.1016/b978-0-12-802104-0.00004-4.
- Malik AI, Colmer TD, Lambers H, Schortemeyer M (2001). Changes in the physiological and morphological traits of roots and shoots of wheat in response to different depths of waterlogging. *Aust J Plant Physiol*, 28:1121-1131. DOI: 10.1071/PP01089.
- Malik AI, Colmer TD, Lambers H, Setter TL, Schortemeyer M (2002). Short-term waterlogging has long-term effects on the growth and physiology of wheat. *New Phytol*, 153:225-236. DOI: 10.1046/j.0028-646X.2001.00318x.
- Manik SMN, Pengilley G, Dean G, Field B, Shabala S, Zhou M (2019). Soil and crop management practices to minimize the impact of waterlogging on crop productivity. *Front Plant Sci*, 10:140. DOI:10.3389/fps.2019.00140.
- Marashi SK, Chincharikar GS (2010). Effect of waterlogging on yield and yield components of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Int J Appl Agr Res*, 5(4):561–567.
- Marcussen T, Sandve SR, Heier L, Spannagl M, Pfeifer M, Jakobsen KS, Wulff BB, Steuernagel B, Mayer KF, Olsen OA (2014). Ancient hybridizations among the ancestral genomes of bread wheat. *Science*, 345(694):1250092-1250094. DOI: 10.1126/science.1250092.
- Marschner H, Marschner P (2012). Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3rd ed. 889 p. Elsevier/Academic Press, London. ISBN 9780123849069.
- Matos, MC, Campos PS, Ramalho JC, Medeira MC, Maia MI, Semedo JN, Marques N, Matos A (2002). Photosynthetic activity and cellular integrity of the Andean legume *Pachyrhizus ahipa* (Wedd.) Parodi under heat and water stress. *Photosynthetica*. 40 (4): 493-501. DOI: 10.1023/A:1024331414564.
- Mazliak P (1983). Plant membrane lipids: Changes and alterations during aging and senescence. *In: Lieberman M. (Ed.), Post-Harvest physiology and crop preservation*. Nato Advanced Study Institutes Series (Series A: Life Sciences), 46. Springer, Boston. ISBN 978-1-4757-0094-7. DOI: 10.1007/978-1-4757-0094-7_5.
- McCauley A, Jones C, Jacobsen J (2017). Soil pH and organic matter. Nutrient management modules, 8:4449-8. Montana State University Extension Service. Bozeman, Montana, pp. 1-12.
- Medrano H, Escalona M, Bota J, Gulías J, Flexas J (2002). Regulation of photosynthesis of C₃ plants in response to progressive drought: stomatal conductance as a reference parameter. *Ann Bot*, 89:895-905. DOI: 10.1093/aob/mcf079.
- Minasny B, McBratneya AB, Broughb DM, Jacquierc D (2011). Models relating soil pH measurements in water and calcium chloride that incorporate electrolyte concentration. *Eur J Soil Sci*, 62:728-732. DOI: 10.1111/j.1365-2389.2011.01386.x.
- Morales-Olmedo M, Ortiz M, Sellés G (2015). Effects of transient soil waterlogging and its importance for rootstock selection. *Chilean J Agric Res*, 75 (Suppl. 1). DOI: 10.4067/S0718-58392015000300006.
- Mustroph A (2018). Improving flooding tolerance of crop plants. *Agronomy* 8:160. DOI: 10.3390/agronomy8090160.

- Nikolaeva MK, Maevskaya SN, Shugaev AG, Bukhov NG (2010). Effect of drought on chlorophyll content and antioxidant enzyme activities in leaves of three wheat cultivars varying in productivity. *Russ J Plant Physiol*, 57:87-95. DOI: 10.1134/S1021443710010127.
- Nishiyama Y, Allakhverdiev SI, Murata N (2006). A new paradigm for the action of reactive oxygen species in the photoinhibition of photosystem II. *BBA-Bioenergetics*, 1757:742-749. DOI: 10.1016/j.bbabi.2006.05.013.
- Norma AFNOR NFX 31-103 (1988). Soils quality. Determination of pH-value in H₂O. Electro-metric method. França.
- Olgun M, Kumlay AM, Adiguzel CM, Caglar A (2008). The effect of waterlogging in wheat (*T. aestivum* L.). *Acta Agric Scand: Soil Plant Sci*, 58:193-198. DOI: 10.1080/09064710701794024.
- Ormond ATS, Nunes JAS, Caneppele C, Silva SLS, Pereira MTJ (2013). Análise das características físicas de sementes de trigo. *Enciclopédia Biosfera*, 9(17):108-114.
- Padilla FM, Gallardo M, Peña-Fleitas MT, Souza R, Thompson RB (2018). Proximal optical sensors for nitrogen management of vegetable crops: a review. *Sensors*, 18:2083. DOI: 10.3390/s18072083.
- Pampana S, Masoni A, Arduini I (2016). Grain yield of durum wheat as affected by waterlogging at tillering. *Cereal Res Commun*, 44(4):706-716. DOI: 10.1556/0806.44.2016.026.
- Parent C, Capelli N, Berger A, Crèvecoeur M, Dat JF (2008). An overview of plant response to soil waterlogging. *Plant Stress*, 2(1):20-27.
- Partelli FL, Batista-Santos P, Scotti-Campos P, Pais IP, Quartin VL, Vieira HD, Ramalho JC (2011). Characterization of the main lipid components of chloroplast membranes and cold induced changes in *Coffea* spp. *Environ Exp Bot*, 74:194-204. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2011.06.001.
- Partelli FL, Vieira HD, Rodrigues APD, Pais I, Campostrini E, Chaves MMCC, Ramalho JC (2010). Cold induced changes on sugar contents and respiratory enzyme activities in coffee genotypes. *Ciência Rural*, 40(4):781-786. DOI: 10.1590/s0103-84782010005000041.
- Pessoa MF, Scotti-Campos P, Pais I, Feteiro A, Canuto D, Simões M, Pelica J, Pataco I, Ribeiro V, Reboredo FH, Ramalho JC, Lidon FC (2016). Nutritional profile of the Portuguese cabbage (*Brassica oleracea* L var. *costata*) and its relationship with the elemental soil analysis. *Emir J Food Agric*, 28(6):381-388. DOI: 10.9755/ejfa.2016-04-338.
- Pfeiffer WH, Trethowan RM, Ginkel M, Ortiz-Monasterio I, Rajaram S (2005). Breeding for abiotic stress tolerance in wheat. In: Ashraf M, Harris P (Eds.). *Abiotic stresses: Plant resistance through breeding and molecular approaches*. Food Products Press, Oxford. 1st ed. ISBN 9781560229650.
- Pierret A, Doussan C, Capowiez Y, Bastardie F, Pages L (2007). Root functional architecture: A framework for modeling the interplay between roots and soil. *Vadose Zone J*, 6:269-281. DOI: 10.2136/vzj2006.0067.
- Ploschuk RA, Miralles DJ, Colmer TD, Ploschuk EL, Striker GG (2018). Waterlogging of winter crops at early stages: impacts on leaf physiology, growth and yield. *Front Plant Sci*, 9:2863. DOI: 10.3389/fpls.2018.01863.

- Prasad R, Power JP (1997). Soil Acidity. *In*: Soil fertility management for sustainable agriculture. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida. 365 p. ISBN 1-56670-254-2.
- Ramvalho JC, Campos PS, Teixeira M, Nunes MA (1998). Nitrogen dependent changes in antioxidant systems and in fatty acid composition of chloroplast membranes from *Coffea arabica* L. plants submitted to high irradiance. *Plant Sci*, 135:115-124. DOI: 10.1016/s0168-9452(98)00073-9.
- Ramvalho JC, Rodrigues AP, Lidon FC, Marques LMC, Leitao AE, Fortunato AS, Pais IP, Silva MJ, Scotti-Campos P, Lopes A, Reboredo FH, Ribeiro-Barros AI (2018). Stress cross-response of the antioxidative system promoted by superimposed drought and cold conditions in *Coffea* spp. *PLoS One*, 13(6):e0198694. DOI: 10.1371/journal.pone.0198694.
- Ramvalho JC, Rodrigues AP, Semedo JN, Pais IP, Martins LD, Simoes-Costa MC, Leitao AE, Fortunato AS, Batista-Santos P, Palos IM, Tomaz MA, Scotti-Campos P, Lidon FC, DaMatta FM (2013). Sustained photosynthetic performance of *Coffea* spp. under long-term enhanced [CO₂]. *PLoS One*, 8(12):e82712. DOI: 10.1371/journal.pone.0082712.
- Ramos TB, Gonçalves MC, Martins JC, Pereira LS (2016). Características de retenção de água no solo para utilização na rega das culturas. INIAV (Eds.). ISBN 978-972-579-043-4.
- Ren B, Zhang J, Dong S, Liu P, Zhao B. (2016). Effects of waterlogging on leaf mesophyll cell ultrastructure and photosynthetic characteristics of summer maize. *PLoS One*, 11(9):e0161424. DOI: 10.1371/journal.pone.0161424.
- Rich SM, Ludwig M, Colmer TD (2008). Photosynthesis in aquatic adventitious roots of the halophytic stem-succulent *Tecticornia pergranulata* (formerly *Halosarcia pergranulata*). *Plant Cell Environ*, 31:1007-1016. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2008.01813.x.
- Rich SM, Ludwig M, Colmer TD (2012). Aquatic adventitious root development in partially and completely submerged wetland plants *Cotula coronopifolia* and *Meionectes brownii*. *Ann Bot*, 110:405-414. DOI: 10.1093/aob/mcs051.
- Robertson D, Zhang H, Palta JA, Colmer T, Turner NC (2009). Waterlogging affects the growth, development of tillers, and yield of wheat through a severe, but transient, N deficiency. *Crop Past Sci*, 60:578-586. DOI: 10.1071/CP08440.
- Rodrigues WP, Martins MQ, Fortunato AS, Rodrigues AP, Semedo JN, Simoes-Costa MC, Pais IP, Leitão AE, Colwell F, Goulão L, Máguas C, Maia R, Partelli FL, Campostrini E, Scotti-Campos P, Ribeiro-Barros AI, Lidon FC, DaMatta FM, Ramvalho JC (2016). Long-term elevated air [CO₂] strengthens photosynthetic functioning and mitigates the impact of supra-optimal temperatures in tropical *Coffea arabica* and *Coffea canephora* species. *Global Change Biol*, 22(1):415-431. DOI: 10.1111/gcb.13088.
- Salvagiotti F, Miralles DJ (2007). Wheat development as affected by nitrogen and sulfur nutrition. *Aust J Agric Res*, 58:39-45. DOI: 10.1071/AR06090.
- Sasanuma T, Chabane K, Endo TR, Valkoun J (2002). Genetic diversity of wheat wild relatives in the Near East detected by AFLP. *Euphytica*, 127:81–93. DOI: 10.1023/A:1019941817057.
- Sasidharan R, Bailey-Serres J, Ashikari M, Atwell BJ, Colmer TD, Fagerstedt K, Fukao T, Geigenberger P, Hebelstrup KH, Hill RD, Holdsworth MJ, Ismail AM, Licausi F, Mustroph A, Nakazono M, Pedersen O, Perata P, Sauter M, Shih M-C, Sorrell BK, Striker GG, van Dongen JT, Whelan J, Xiao S, Visser EJW, Voesenek LACJ (2017). Community recommendations on

- terminology and procedures used in flooding and low oxygen stress research. *New Phytol*, 214:1403–1407. DOI: 10.1111/nph.14519.
- Sauter M (2013). Root responses to flooding. *Curr Opin Plant Biol*, 16:282-286. DOI: 10.1016/j.pbi.2013.03.013.
- Scheeren OL, Castro RL, Caeirao E (2015). Botânica, morfologia e descrição fenotípica. *In*: Trigo - do plantio à colheita. Cap 2 pag 35-55. Borém A, Scheeren PL (Eds.). Ed. UFV, Viçosa, M.G., ISBN: 9788572695220
- Schneider A, Molnár I, Molnár-Láng M (2008). Utilisation of *Aegilops* (goatgrass) species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*, 163:1-19. DOI: 10.1007/s10681-007-9624-y.
- Scotti-Campos P, Duro N, Costa MD, Pais IP, Rodrigues AP, Batista-Santos P, Semedo JN, Leitão A, Lidon FJC, Pawlowski K, Ramalho JC, Ribeiro-Barros AI (2016). Antioxidative ability and membrane integrity in salt-induced responses of *Casuarina glauca* Sieber ex Spreng. in symbiosis with N₂-fixing *Frankia* Thr or supplemented with mineral nitrogen. *J Plant Physiol*, 196-197, 60-69. DOI: 10.1016/j.jplph.2016.03.012.
- Scotti-Campos P, Pais IP, Partelli FL, Batista-Santos P, Ramalho JC (2014b). Phospholipids profile in chloroplasts of *Coffea* spp. genotypes differing in cold acclimation ability. *J Plant Physiol*, 171(3-4):243-249. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.07.007.
- Scotti-Campos P, Semedo JN, Pais I, Oliveira M, Passarinho J, Ramalho JC (2014a). Heat tolerance of Portuguese old bread wheat varieties. *Emir J Food Agric*, 26(2):170-179. DOI: 10.9755/ejfa.v26i2.16761.
- Scotti-Campos P, Semedo JN, Pais I, Oliveira M, Passarinho JA (2011). Alguns indicadores fisiológicos de tolerância ao calor em trigo mole. *In*: Agrorural: Contributos Científicos, pp. 939-946, INRB, I.P., INCM, S.A. (Eds.) Lisboa. ISBN: 978-972-27-2022-9.
- Scotti-Campos P, Semedo JN, Pais IP, Oliveira M, Passarinho J, Santos M, Almeida AS, Costa AR, Pinheiro N, Bagorro C, Coco J, Costa A, Coutinho J, Maças B (2015). Physiological responses to drought in four developed *Triticum aestivum* groups. *Emir J Food Agric*, 27(2):178-185. DOI: 10.9755/ejfa.v27i2.19277.
- Setter TL, Kupkanchanakul T, Kupkanchanakul K, Bhekasut P, Wiengweera A, Greenway H (1987). Concentrations of CO₂ and O₂ in floodwater and in internodal lacunae of floating rice growing at 1-2 metre water depths. *Plant Cell Environ*, 10:767-776. DOI: 10.1111/1365-3040.ep11604764.
- Setter TL, Waters I, Sharma SK, Singh KN, Kulshreshtha N, Yaduvanshi NPS, Ram PC, Singh BN, Rane J, McDonald G, Khabaz-Saberi H, Biddulph TB, Wilson R, Barclay I, McLean R, Cakir M (2009). Review of wheat improvement for waterlogging tolerance in Australia and India: the importance of anaerobiosis and element toxicities associated with different soils. *Ann Bot*, 103:221-235. DOI: doi:10.1093/aob/mcn137.
- Shabala S (2011). Physiological and cellular aspects of phytotoxicity tolerance in plants: the role of membrane transporters and implications for crop breeding for waterlogging tolerance. *New Phytol*, 190:289–298. DOI: 10.2307/29783438.

- Sharma KL, Mandal B, Venkateswarlu B (2012). Soil quality and productivity improvement under rainfed conditions - Indian perspectives. *In: Resource management for sustainable agriculture*. Abrol V, Sharma P (Eds.), InTech, Rijeka, Croatia. ISBN 978-953-51-0808-5.
- Sharma SK, Kulshreshtha N, Kumar A, Yaduvanshi NPS, Singh M, Prasad KRK, Basak N (2018). Waterlogging effects on elemental composition of wheat genotypes in sodic soils. *J Plant Nutr*. DOI:10.1080/01904167.2018.1434541.
- Shaw RE, Meyer WS, McNeill A, Tyerman SD (2013) Waterlogging in Australian agricultural landscapes: a review of plant responses and crop models. *Crop Pasture Sci*, 64:549-562. DOI: 10.1071/CP13080.
- Shewry PR (2009). Wheat. *J Exp Bot*, 60(6):1537-1553. DOI: 10.1093/jxb/erp058.
- Simkin AJ, López-Calcano PE, Raines CA (2019). Feeding the world: improving photosynthetic efficiency for sustainable crop production. *J Exp Bot*, 70(4):1119-1140. DOI:10.1093/jxb/ery445.
- Singh AK, Vijai P, Srivastava JP (2019). Plants under waterlogged conditions: an overview. *In: Engineering practices for management of soil salinity: Agricultural, physiological and adaptive approaches*. Gupta SK, Goyal MR, Singh A (Eds.). Apple Academic Press Inc, Oakville, Canada. ISBN: 978-1-351-17108-3.
- Singh J, Thakur JK (2018). Photosynthesis and abiotic stress in plants. *In: Biotic and abiotic stress tolerance in plants*, pp 27-46, Vats E (Ed.), Springer, Singapore. DOI: 10.1007/978-981-10-9029-5_2.
- Singh SV, Singh AK, Raghuvanshi N, Singh RA (2017). Effect of nitrogen management practices on the productivity of late sown wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 6(7):878-887. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.607.108.
- Soleh MA, Ariyanti M, Dewi IR, Kadapi M (2018). Chlorophyll fluorescence and stomatal conductance of ten sugarcane varieties under waterlogging and fluctuation light intensity. *Emir J Food Agric*, 30(11):935-940. DOI: 10.9755/ejfa.2018.v30.i11.1844 .
- Song X, Wang Y, Lv X (2016). Responses of plant biomass, photosynthesis and lipid peroxidation to warming and precipitation change in two dominant species (*Stipa grandis* and *Leymus chinensis*) from North China Grasslands. *Ecol Evol*, 6(6):1871-1882. DOI: 10.1002/ece3.1982.
- Steffens B, Rasmussen A (2016). The physiology of adventitious roots. *Plant Physiol*, 170:603-617. DOI: 10.1104/pp.15.01360.
- Striker GG, Insausti P, Grimoldi AA, Ploschuk EL, Vasselatti V (2005). Physiological and anatomical basis of differential tolerance to soil flooding of *Lotus corniculatus* L. and *Lotus glaber* Mill. *Plant Soil*, 276:301:311. DOI: 10.1007/s11104-005-5084-0.
- Süß A, Danner M, Obster C, Locherer M, Hank T, Richter K (2015). Measuring leaf chlorophyll content with the Konica Minolta SPAD-502Plus - Theory, measurement, problems, interpretation. *EnMAP Field Guides Technical Report*, GFZ Data Services. DOI: 10.2312/enmap.2015.010.
- Talbi S, Romero-Puertas MC, Hernández A, Terrón L, Ferchichi A, Sandalio LM (2015). Drought tolerance in a Saharian plant *Oudneya africana*: role of antioxidant defences. *Environ Exp Bot*, 111:114-126. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2014.11.004.

- Tan X, Xu H, Khan S, Equiza MA, Lee SH, Vaziriyeganeh M, Zwiazek JJ (2018). Plant water transport and aquaporins in oxygen-deprived environments. *J Plant Physiol*, 227:20-30. DOI: 10.1016/j.jplph.2018.05.003.
- Uddling J, Gelang-Alfredsson J, Piikki K, Pleijel H (2007). Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynth Res*, 91:37-46. DOI: 10.1007/s11120-006-9077-5.
- Ullah I, Waqas M, Khan MA, Lee I-J, Kim W-C (2017). Exogenous ascorbic acid mitigates flood stress damages of *Vigna angularis*. *Appl Biol Chem*, 60:603–614. DOI: 10.1007/s13765-017-0316-6.
- Valério IP, Carvalho FIF, Oliveira AC, Machado AA, Benin G, Scheeren PL, Souza VQ, Hartwig I (2008). *Pesq Agropec Bras*, 43(3):319-326.
- Varenes A (2003). *Produtividade dos solos e ambiente*. Escolar Ed, Portugal. ISBN: 9789725921562.
- Venske E, Santos RS, Busanello C, Gustafson P, Oliveira AC (2019). Bread wheat: a role model for plant domestication and breeding. *Hereditas*, 156:16. DOI: 10.1186/s41065-019-0093-9.
- von Caemmerer S, Farquhar GD (1981). Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. *Planta*, 153(4):376-387. DOI: 10.1007/bf00384257.
- Vose PB (1982). Iron nutrition in plants: A world overview. *J Plant Nutr*, 5(4-7):233-249, DOI: 10.1080/01904168209362954.
- Wang X (2004). Lipid signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 7:329-336. DOI: 10.1016/j.pbi.2004.03.012.
- Wei W, Li D, Wang L, Ding X, Zhang Y, Gao Y, Zhang X (2013). Morpho-anatomical and physiological responses to waterlogging of sesame (*Sesamum indicum* L.). *Plant Sci*, 208:102-111. DOI: 10.1016/j.plantsci.2013.03.014.
- Wiengweera A, Greenway H (2004). Performance of seminal and nodal roots of wheat in stagnant solution: K⁺ and P uptake and effects of increasing O₂ partial pressures around the shoot on nodal root elongation. *J Exp Bot*, 55(405):2121–2129. DOI: 10.1093/jxb/erh232.
- Wu J-D, Li J-C, Zhen F-W, Wang C-Y, Zhang Y, Sun G (2014). Effects of nitrogen spraying on the post-anthesis stage of winter wheat under waterlogging stress. *Acta Physiol Plant*, 36:207-216. DOI: 10.1007/s11738-013-1401-z.
- Wu W, Zhou L, Chen J, Qiu Z, He Y (2018). Gain TKW: A measurement system of thousand kernel weight based on the android platform. *Agronomy*, 8:178. DOI:10.3390/agronomy8090178.
- Xiao K, Yu L, Xu J, Brookes PC (2014). pH, nitrogen mineralization, and KCl-extractable aluminum as affected by initial soil pH and rate of vetch residue application: results from a laboratory study. *J Soil Sediment*, 14:1513-1525. DOI 10.1007/s11368-014-0909-1.
- Xiao S, Chye ML (2011). New roles for acyl-CoA-binding proteins (ACBPs) in plant development, stress responses and lipid metabolism. *Prog Lipid Res*, 50:141-151. DOI: 10.1016/j.plipres.2010.11.002.

- Xie LJ, Yu LJ, Chen QF (2015). *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein ACBP3 participates in plant response to hypoxia by modulating very-long-chain fatty acid metabolism. *Plant J*, 81:53–67. DOI: 10.1111/tpj.12692.
- Yadav VK, Kajla M, Singh SP, Singh AK, Yadav RK, Dwivedi AK (2015). Effect of waterlogging tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) at ear emergence stage on growth, biochemical and yield parameters in sodic soil. *J Appl Nat Sci*, 7(2):949-954.
- Zadoks JC, Chang TT, Konzak CF (1974). A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Res*, 14:415-421. DOI: 10.1111/j.1365-3180.1974.tb01084.x.
- Zaidi PH, Rafique S, Rai PK, Singh NN, Srinivasan G (2004). Tolerance to excess moisture in maize (*Zea mays* L.): susceptible crop growth stage and identification of tolerant genotypes. *Field Crop Res*, 90:189-202. DOI: 10.1016/j.fcr.2004.03.002.
- Zhang Q, Huber H, Beljaars SJM, Birnbaum D, de Best S, de Kroon H, Visser EJW (2017). Benefits of flooding-induced aquatic adventitious roots depend on the duration of submergence: linking plant performance to root functioning. *Ann Bot*, 120(1):171-180. DOI: 10.1093/aob/mcx049.
- Zheng C, Jiang D, Liu F, Dai T, Jing Q, Cao W (2009). Effects of salt and waterlogging stresses and their combination on leaf photosynthesis, chloroplast ATP synthesis, and antioxidant capacity in wheat. *Plant Sci*, 176:575-582. DOI: 10.1016/j.plantsci.2009.01.015.
- Zheng X, Zhou J, Tan D-X, Wang N, Wang L, Shan D, Kong J (2017). Melatonin improves waterlogging tolerance of *Malus baccata* (Linn.) borkh. seedlings by maintaining aerobic respiration, photosynthesis and ROS migration. *Front Plant Sci*, 8:483. DOI: 10.3389/fpls.2017.00483.
- Zhu XG, Long SP, Ort DR (2010). Improving photosynthetic efficiency for greater yield. *Annual Rev Plant Biol*, 61:235-261. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112206.

7. Anexos

7.1. Anexo 1: Escala decimal de desenvolvimento dos cereais (Zadoks et al., 1974). Adaptado de Scheeren et al., 2015.

Código	Estádio
0	Germinação
00	Semente seca
01	Início da embebição
02	
03	Embebição completa
04	
05	Emergência da radícula da cariopse
06	
07	Coleótilo emergido
08	
09	Folha no ápice do coleótilo
1	Crescimento da plântula
10	Primeira folha através do coleótilo
11	Primeira folha aberta
12	Duas folhas abertas
13	Três folhas abertas
14	Quatro folhas abertas
15	Cinco folhas abertas
16	Seis folhas abertas
17	Sete folhas abertas
18	Oito folhas abertas
19	Nove ou mais folhas abertas
2	Afilhamento
20	Somente o colmo principal
21	Colmo principal e um filho
22	Colmo principal e dois filho
23	Colmo principal e três filho
24	Colmo principal e quatro filho
25	Colmo principal e cinco filho
26	Colmo principal e seis filho
27	Colmo principal e sete filho
28	Colmo principal e oito filho
29	Colmo principal e nove ou mais filhos
3	Alongamento
30	Pseudocolmo ereto
31	Primeiro nó visível
32	Segundo nó visível
33	Terceiro nó visível
34	Quarto nó visível
35	Quinto nó visível
36	Sexto nó visível
37	Folha bandeira recém-visível
38	
39	Lígula da folha bandeira recém-visível
4	Emborrachamento
41	Bainha da folha bandeira em extensão
42	
43	Início do emborrachamento
44	
45	Emborrachamento completo
46	
47	Abertura da bainha da folha bandeira
48	
49	Primeiras aristas visíveis

5	Emergência da inflorescência
50	Primeira espigeta da inflorescência recém-visível
51	
52	Um quarto das inflorescências emergidas
53	
54	Metade das inflorescências emergidas
55	
56	Três quartos das inflorescências emergidas
57	
58	Emergência completa da inflorescência
59	
6	Ântese
60	Início da ântese
61	
62	
63	
64	Metade da ântese completa
65	
66	
67	
68	Ântese completa
69	
7	Desenvolvimento do grão leitoso
70	Cariopse aquosa
71	
72	
73	Início do estado leitoso
74	
75	Estado leitoso
76	
77	Final do estado leitoso
78	
79	
8	Desenvolvimento do grão em massa
80	
81	
82	
83	Início do estado de massa
84	
85	Estado de massa mole
86	
87	Estado de massa dura
88	
89	
9	Maturação
90	
91	Cariopse dura (difícil dividir com a unha)
92	Cariopse dura (não pode ser dividida com a unha)
93	Cariopse soltando-se durante o dia
94	Sobre maturação, palha seca e quebradiça
95	Semente dormente
96	Semente viável com 50% de germinação
97	Semente não dormente
98	Dormência secundária induzida
99	Dormência secundária perdida

7.2. Anexo 2: - Teores dos vários elementos minerais do solo detetados por XRF, e respetiva análise estatística.

Tabela 7.1 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ca (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Ca (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	1,00 ^{a r}	0,92 ^{a r}	0,66 ^{a s}
MC	1,01 ^{a r}	0,92 ^{a r}	0,68 ^{a s}
Rest.	1,00 ^{a r}	0,94 ^{a r}	0,72 ^{a s}
Ch.	0,99 ^{a r}	0,93 ^{a r}	0,73 ^{a s}
Nab.	1,00 ^{a r}	0,94 ^{a r}	0,69 ^{a s}
Arp.	1,01 ^{a r}	0,93 ^{a r}	0,69 ^{a s}
Sois.	1,01 ^{a r}	0,96 ^{a r}	0,71 ^{a s}
Or.	0,93 ^{a r}	0,83 ^{a rs}	0,66 ^{a s}
Sol.	1,00 ^{a r}	0,87 ^{a r}	0,74 ^{a s}
Sunv.	0,93 ^{a r}	0,85 ^{a r}	0,63 ^{a s}
BT-S	0,93 ^{a r}	0,82 ^{a rs}	0,68 ^{a s}
Exc.	1,00 ^{a r}	0,92 ^{a r}	0,68 ^{a s}
G/...	0,96 ^{a r}	0,90 ^{a r}	0,63 ^{a s}
D/G//S	1,01 ^{a r}	0,96 ^{a r}	0,67 ^{a s}
K/P//M/D	0,95 ^{a r}	0,83 ^{a rs}	0,64 ^{a s}

Tabela 7.2 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de K (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	K (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	1,21 ^{a r}	1,25 ^{a r}	0,92 ^{a s}
MC	1,22 ^{a r}	1,22 ^{a r}	0,99 ^{a s}
Rest.	1,25 ^{a r}	1,25 ^{a r}	1,06 ^{a s}
Ch.	1,20 ^{a r}	1,23 ^{a r}	1,05 ^{a s}
Nab.	1,30 ^{a r}	1,20 ^{a r}	1,03 ^{a s}
Arp.	1,21 ^{a r}	1,19 ^{a r}	0,93 ^{a s}
Sois.	1,29 ^{a r}	1,18 ^{a r}	0,99 ^{a s}
Or.	1,20 ^{a r}	1,17 ^{a r}	0,97 ^{a s}
Sol.	1,19 ^{a r}	1,14 ^{a r}	0,97 ^{a s}
Sunv.	1,18 ^{a r}	1,17 ^{a r}	1,02 ^{a s}
BT-S	1,18 ^{a r}	1,23 ^{a r}	1,00 ^{a s}
Exc.	1,28 ^{a r}	1,24 ^{a s}	1,05 ^{a s}
G/...	1,27 ^{a r}	1,32 ^{a r}	1,03 ^{a s}
D/G//S	1,24 ^{a r}	1,34 ^{a r}	1,07 ^{a s}
K/P//M/D	1,24 ^{a r}	1,35 ^{a r}	0,99 ^{a s}

Tabela 7.3 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Fe (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Fe (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	1,36 ^{a r}	1,38 ^{a r}	1,34 ^{a r}
MC	1,42 ^{a r}	1,48 ^{a r}	1,63 ^{a r}
Rest.	1,39 ^{a r}	1,56 ^{a r}	1,62 ^{a r}
Ch.	1,53 ^{a r}	1,32 ^{a r}	1,59 ^{a r}
Nab.	1,54 ^{a r}	1,31 ^{a r}	1,64 ^{a r}
Arp.	1,45 ^{a r}	1,26 ^{a r}	1,37 ^{a r}
Sois.	1,49 ^{a r}	1,62 ^{a r}	1,43 ^{a r}
Or.	1,30 ^{a r}	1,60 ^{a r}	1,30 ^{a r}
Sol.	1,29 ^{a r}	1,35 ^{a r}	1,21 ^{a r}
Sunv.	1,36 ^{a r}	1,23 ^{a r}	1,26 ^{a r}
BT-S	1,39 ^{a r}	1,50 ^{a r}	1,36 ^{a r}
Exc.	1,43 ^{a r}	1,36 ^{a r}	1,53 ^{a r}
G/...	1,49 ^{a r}	1,43 ^{a r}	1,50 ^{a r}
D/G//S	1,64 ^{a r}	1,43 ^{a r}	1,45 ^{a r}
K/P//M/D	1,33 ^{a r}	1,44 ^{a r}	1,42 ^{a r}

Tabela 7.4 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Al (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Al (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	1,32 ^{a r}	0,70 ^{a s}	0,68 ^{a s}
MC	1,14 ^{a r}	0,72 ^{a s}	0,77 ^{a s}
Rest.	1,27 ^{a r}	0,91 ^{a s}	0,93 ^{a s}
Ch.	1,30 ^{a r}	0,81 ^{a s}	0,79 ^{a s}
Nab.	1,17 ^{a r}	0,88 ^{a r}	0,84 ^{a r}
Arp.	1,33 ^{a r}	0,65 ^{a s}	0,74 ^{a s}
Sois.	1,29 ^{a r}	0,92 ^{a s}	0,79 ^{a s}
Or.	1,22 ^{a r}	0,96 ^{a r s}	0,72 ^{a s}
Sol.	1,15 ^{a r}	0,79 ^{a s}	0,76 ^{a s}
Sunv.	1,08 ^{a r}	0,80 ^{a r}	0,78 ^{a r}
BT-S	1,17 ^{a r}	0,93 ^{a r s}	0,70 ^{a s}
Exc.	1,31 ^{a r}	0,84 ^{a s}	0,77 ^{a s}
G/...	1,26 ^{a r}	0,84 ^{a s}	0,78 ^{a s}
D/G//S	1,10 ^{a r}	0,79 ^{a r}	0,89 ^{a r}
K/P//M/D	1,20 ^{a r}	0,99 ^{a r}	1,02 ^{a r}

Tabela 7.5 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Si (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Si (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	14,63 ^{a r}	9,27 ^{a s}	9,83 ^{a s}
MC	12,88 ^{a r}	9,69 ^{a s}	10,15 ^{a s}
Rest.	13,46 ^{a r}	10,32 ^{a s}	10,21 ^{a s}
Ch.	13,76 ^{a r}	10,50 ^{a s}	9,93 ^{a s}
Nab.	12,37 ^{a r}	11,12 ^{a r}	10,11 ^{a r}
Arp.	14,09 ^{a r}	8,91 ^{a s}	9,75 ^{a s}
Sois.	13,76 ^{a r}	10,39 ^{a s}	10,40 ^{a s}
Or.	13,52 ^{a r}	10,29 ^{a s}	10,34 ^{a s}
Sol.	13,34 ^{a r}	10,10 ^{a s}	10,34 ^{a s}
Sunv.	12,58 ^{a r}	10,69 ^{a r}	10,65 ^{a r}
BT-S	13,35 ^{a r}	11,13 ^{a s}	9,61 ^{a s}
Exc.	14,05 ^{a r}	10,44 ^{a s}	9,60 ^{a s}
G/...	13,82 ^{a r}	10,22 ^{a s}	9,71 ^{a s}
D/G//S	11,22 ^{a r}	9,70 ^{a r}	10,36 ^{a r}
K/P//M/D	12,56 ^{a r}	11,44 ^{a r}	11,72 ^{a r}

Tabela 7.6 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Ti (%) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Ti (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	0,42 ^{a r}	0,41 ^{a r}	0,37 ^{a r}
MC	0,38 ^{a r}	0,43 ^{a r}	0,50 ^{a r}
Rest.	0,39 ^{a r}	0,51 ^{a r}	0,49 ^{a r}
Ch.	0,44 ^{a r}	0,43 ^{a r}	0,45 ^{a r}
Nab.	0,45 ^{a r}	0,39 ^{a r}	0,48 ^{a r}
Arp.	0,46 ^{a r}	0,35 ^{a r}	0,42 ^{a r}
Sois.	0,44 ^{a r}	0,45 ^{a r}	0,39 ^{a r}
Or.	0,39 ^{a r}	0,45 ^{a r}	0,42 ^{a r}
Sol.	0,39 ^{a r}	0,41 ^{a r}	0,39 ^{a r}
Sunv.	0,41 ^{a r}	0,35 ^{a r}	0,39 ^{a r}
BT-S	0,39 ^{a r}	0,45 ^{a r}	0,39 ^{a r}
Exc.	0,44 ^{a r}	0,39 ^{a r}	0,45 ^{a r}
G/...	0,45 ^{a r}	0,41 ^{a r}	0,45 ^{a r}
D/G//S	0,50 ^{a r}	0,39 ^{a r}	0,43 ^{a r}
K/P//M/D	0,38 ^{a r}	0,44 ^{a r}	0,40 ^{a r}

Tabela 7.7 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Mn (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Mn (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	177,90 ^{a r}	177,44 ^{a r}	219,03 ^{a r}
MC	166,27 ^{a s}	178,35 ^{a s}	239,53 ^{a r}
Rest.	171,51 ^{a s}	209,42 ^{a r s}	244,69 ^{a r}
Ch.	186,97 ^{a r}	170,04 ^{a r}	206,27 ^{a r}
Nab.	183,77 ^{a s}	209,51 ^{a r s}	256,37 ^{a r}
Arp.	183,25 ^{a r}	189,92 ^{a r}	178,27 ^{a r}
Sois.	194,00 ^{a r}	226,36 ^{a r}	216,96 ^{a r}
Or.	167,80 ^{a r}	178,69 ^{a r}	175,59 ^{a r}
Sol.	164,92 ^{a r}	182,56 ^{a r}	187,16 ^{a r}
Sunv.	183,77 ^{a r}	169,48 ^{a r}	188,88 ^{a r}
BT-S	175,49 ^{a r}	197,72 ^{a r}	186,97 ^{a r}
Exc.	184,56 ^{a s}	178,95 ^{a s}	240,97 ^{a r}
G/...	188,33 ^{a r}	214,18 ^{a r}	211,82 ^{a r}
D/G//S	191,99 ^{a r}	173,45 ^{a r}	187,93 ^{a r}
K/P//M/D	199,47 ^{a r}	202,28 ^{a r}	182,65 ^{a r}

Tabela 7.8 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Cu (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Cu (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	57,98 ^{a r}	57,26 ^{a r}	54,24 ^{a r}
MC	52,87 ^{a r}	52,46 ^{a r}	47,67 ^{a r}
Rest.	56,72 ^{a r}	56,93 ^{a r}	51,79 ^{a r}
Ch.	52,00 ^{a r}	53,95 ^{a r}	45,81 ^{a r}
Nab.	62,67 ^{a r}	59,64 ^{a r}	45,72 ^{a s}
Arp.	62,91 ^{a r}	62,23 ^{a r}	56,61 ^{a r}
Sois.	57,51 ^{a r}	57,03 ^{a r}	51,73 ^{a r}
Or.	57,16 ^{a r}	55,05 ^{a r}	52,40 ^{a r}
Sol.	57,94 ^{a r}	57,96 ^{a r}	53,63 ^{a r}
Sunv.	58,29 ^{a r}	58,84 ^{a r}	49,09 ^{a s}
BT-S	57,66 ^{a r}	58,97 ^{a r}	56,97 ^{a r}
Exc.	62,32 ^{a r}	56,85 ^{a r}	58,27 ^{a r}
G/...	57,47 ^{a r}	54,41 ^{a r}	55,17 ^{a r}
D/G//S	60,34 ^{a r}	58,45 ^{a r}	58,26 ^{a r}
K/P//M/D	60,87 ^{a r}	60,51 ^{a r}	58,35 ^{a r}

Tabela 7.9 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Zn (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, p≤0,05).

	Zn (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	27,81 ^{a r}	25,43 ^{a r}	23,57 ^{a r}
MC	24,57 ^{a r}	25,97 ^{a r}	25,71 ^{a r}
Rest.	28,97 ^{a r}	27,43 ^{a r}	25,63 ^{a r}
Ch.	27,96 ^{a r}	31,48 ^{a r}	28,75 ^{a r}
Nab.	33,25 ^{a r}	34,06 ^{a r}	22,06 ^{a s}
Arp.	27,00 ^{a r}	25,97 ^{a r}	27,08 ^{a r}
Sois.	29,58 ^{a r}	32,09 ^{a r}	27,21 ^{a r}
Or.	27,53 ^{a r}	26,09 ^{a r}	21,95 ^{a r}
Sol.	26,58 ^{a r}	33,20 ^{a r}	24,91 ^{a r}
Sunv.	29,50 ^{a r}	25,39 ^{a r}	26,00 ^{a r}
BT-S	28,66 ^{a r}	28,87 ^{a r}	26,32 ^{a r}
Exc.	30,10 ^{a r}	26,69 ^{a r}	30,11 ^{a r}
G/...	28,59 ^{a r}	26,11 ^{a r}	28,31 ^{a r}
D/G//S	27,85 ^{a r}	26,77 ^{a r}	31,20 ^{a r}
K/P//M/D	24,29 ^{a r}	21,42 ^{a r}	20,48 ^{a r}

Tabela 7.10 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Zr (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, p≤0,05).

	Zr (%)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	126,52 ^{a r}	127,34 ^{a r}	120,73 ^{a r}
MC	125,52 ^{a r}	154,03 ^{a r}	170,45 ^{a r}
Rest.	141,22 ^{a r}	167,20 ^{a r}	164,55 ^{a r}
Ch.	151,11 ^{a r}	127,93 ^{a r}	160,24 ^{a r}
Nab.	162,38 ^{a r}	144,81 ^{a r}	139,88 ^{a r}
Arp.	163,65 ^{a r}	131,80 ^{a r}	150,45 ^{a r}
Sois.	154,14 ^{a r}	158,38 ^{a r}	133,18 ^{a r}
Or.	136,10 ^{a r}	158,48 ^{a r}	130,03 ^{a r}
Sol.	121,15 ^{a r}	151,52 ^{a r}	137,32 ^{a r}
Sunv.	132,47 ^{a r}	98,83 ^{a r}	117,36 ^{a r}
BT-S	153,09 ^{a r}	159,60 ^{a r}	129,95 ^{a r}
Exc.	144,60 ^{a r}	129,45 ^{a r}	181,97 ^{a r}
G/...	152,94 ^{a r}	168,59 ^{a r}	175,27 ^{a r}
D/G//S	192,79 ^{a r}	149,61 ^{a r}	144,15 ^{a r}
K/P//M/D	126,89 ^{a r}	135,59 ^{a r}	121,87 ^{a r}

Tabela 7.11 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Sr (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Sr (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	36,92 ^{a r}	35,87 ^{a r}	36,06 ^{a r}
MC	35,78 ^{a r}	36,87 ^{a r}	41,51 ^{a r}
Rest.	38,98 ^{a r}	40,91 ^{a r}	43,25 ^{a r}
Ch.	39,70 ^{a r}	38,24 ^{a r}	42,10 ^{a r}
Nab.	41,31 ^{a r}	36,09 ^{a r}	39,87 ^{a r}
Arp.	37,49 ^{a r}	36,67 ^{a r}	35,77 ^{a r}
Sois.	42,54 ^{a r}	44,38 ^{a r}	36,18 ^{a r}
Or.	36,48 ^{a r}	41,48 ^{a r}	36,43 ^{a r}
Sol.	35,19 ^{a r}	39,32 ^{a r}	34,87 ^{a r}
Sunv.	34,77 ^{a r}	35,94 ^{a r}	35,44 ^{a r}
BT-S	38,76 ^{a r}	39,31 ^{a r}	36,71 ^{a r}
Exc.	38,57 ^{a r}	37,97 ^{a r}	42,64 ^{a r}
G/...	39,21 ^{a r}	39,73 ^{a r}	40,35 ^{a r}
D/G//S	43,05 ^{a r}	39,36 ^{a r}	39,97 ^{a r}
K/P//M/D	36,44 ^{a r}	39,06 ^{a r}	38,12 ^{a r}

Tabela 7.12 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Rb (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Rb (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	53,22 ^{a r}	52,65 ^{a r}	46,93 ^{a r}
MC	52,19 ^{a r}	51,15 ^{a r}	47,51 ^{a r}
Rest.	50,92 ^{a r}	57,24 ^{a r}	56,45 ^{a r}
Ch.	52,35 ^{a r}	52,49 ^{a r}	53,42 ^{a r}
Nab.	52,38 ^{a r}	49,37 ^{a r}	53,33 ^{a r}
Arp.	51,21 ^{a r}	40,58 ^{a r}	51,39 ^{a r}
Sois.	55,87 ^{a r}	57,32 ^{a r}	46,58 ^{a r}
Or.	50,83 ^{a r}	54,05 ^{a r}	51,40 ^{a r}
Sol.	50,40 ^{a r}	54,12 ^{a r}	49,51 ^{a r}
Sunv.	48,44 ^{a r}	47,08 ^{a r}	46,28 ^{a r}
BT-S	55,26 ^{a r}	42,91 ^{a r}	46,55 ^{a r}
Exc.	54,50 ^{a r}	53,17 ^{a r}	46,97 ^{a r}
G/...	56,58 ^{a r}	54,85 ^{a r}	52,67 ^{a r}
D/G//S	52,06 ^{a r}	53,74 ^{a r}	55,49 ^{a r}
K/P//M/D	46,51 ^{a r}	56,77 ^{a r}	48,66 ^{a r}

Tabela 7.13 – Efeito de 14 dias de alagamento na concentração de Nb (ppm) no solo. T0 – início do tratamento; T14 C – Vasos não alagados no 14º dia de tratamento; T14 A – Vasos alagados no 14º dia de tratamento. Os valores correspondem a médias (T0: n=6; T14: n=3). Letras diferentes correspondem a diferenças significativas entre genótipos no mesmo tratamento (a, b) ou para cada genótipo nos diferentes tratamentos (r, s). As letras (a) e ® correspondem aos valores maiores. (Anova de fator duplo, $p \leq 0,05$).

	Nb (ppm)		
	T0	T14 C	T 14 A
Alent.	11,96 ^{a r}	11,85 ^{a r}	10,81 ^{a r}
MC	10,89 ^{a r}	12,50 ^{a r}	12,97 ^{a r}
Rest.	11,19 ^{a r}	13,92 ^{a r}	14,67 ^{a r}
Ch.	12,22 ^{a r}	11,07 ^{a r}	13,26 ^{a r}
Nab.	13,36 ^{a r}	11,27 ^{a r}	13,92 ^{a r}
Arp.	12,10 ^{a r}	11,43 ^{a r}	11,72 ^{a r}
Sois.	12,62 ^{a r}	14,07 ^{a r}	11,47 ^{a r}
Or.	11,20 ^{a r}	12,83 ^{a r}	10,43 ^{a r}
Sol.	10,12 ^{a r}	12,78 ^{a r}	10,73 ^{a r}
Sunv.	11,38 ^{a r}	9,99 ^{a r}	10,27 ^{a r}
BT-S	11,38 ^{a r}	12,65 ^{a r}	11,63 ^{a r}
Exc.	11,28 ^{a r}	11,13 ^{a r}	13,48 ^{a r}
G/...	12,58 ^{a r}	12,42 ^{a r}	12,82 ^{a r}
D/G//S	14,04 ^{a r}	13,27 ^{a r}	10,88 ^{a r}
K/P//M/D	10,09 ^{a r}	12,67 ^{a r}	11,28 ^{a r}